

HROC40-celler | 300822

Allmän information

Description	Detta är en cellinje i en serie av tumörcellinjer som har etablerats av PD Dr. Michael Linnebacher från primära CRC-resektionsprover sedan 2006.
Organism	Människan
Tissue	Kolon descendens, UICC IIIa
Disease	Primärt adenokarcinom, TNM-stadium T3N1M0R0L1V1, gradering G3, Lk(n) + 2, Σ Lk(n) 18

Egenskaper

Age	69 år
Gender	Man
Ethnicity	Kaukasisk
Morphology	Epitelliknande
Growth properties	Följsam

Lagstadgade uppgifter

Citation	HROC40 (Cytion katalognummer 300822)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1G01
Depositor	M. Linnebacher

Biomolekylära data

Protein expression	Beta-aktin, osteopontin låg, Toll-like receptor (TLR) 3 måttlig, TLR4 måttlig, TLR7 låg, TLR8 -, PTEN
---------------------------	---

HROC40-celler | 300822

Antigen expression CD326+, CD44+, CD15+, CD71+, CD73+, CD274+, CD47+, CD54+, CD95+, CD276+, CD133- , CD66acdewweak, IDO+, cFLIP+, MHC-I+, MHCIIweak efter IFN- γ -behandling, EpCAM+

Tumorigenic Ja, i immunsupprimerade nakenmöss

Viruses Fri från humanpatogena virus SV40, JC/BK, HBV, HCV, HIV.

Ploidy status Aneuploid

MSI-status MSS

Mutational profile P53G266e, APCwt, K-RasG13D, mt13, N-Raswt, H-Raswt, PIK3CAwt, B-Rafwt

Hantering

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L Glukos, w: 2,5 mM L-Glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM Natriumpyruvat, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820400a)

Supplements Komplettera mediet med 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Efter upptining, resuspendera cellpelleten försiktigt. Centrifugera vid 300 x g i 3 minuter och kassera supernatanten. Seed i 2x 25cm² cellodlingskolvar och låt kolvarna stå i 48 timmar i inkubatorn. Byt ut det förbrukade mediet var 2-3:e dag, tills 80-90 % konfluency har uppnåtts. Detta kommer att ta ungefär 10-14 dagar.

Split ratio Ett förhållande på 1:4 till 1:8 rekommenderas

Seeding density 5x10⁴ celler/cm² efter upptining, 3x10⁴ celler/cm² när cellerna förökar sig kraftigt

Fluid renewal Var 3:e till 5:e dag

Post-Thaw Recovery Snabb

Freeze medium Som kryokonservationsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

HROC40-celler | 300822

Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfryst vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeshuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid $300 \times g$ i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkolv; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befuktad atmosfär.

Flask Coating

För optimal vidhäftning och viabilitet efter upptining rekommenderar vi att **kollagenbelagda kolvar eller plattor** används.

Freezing Procedure

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

HROC40-celler | 300822

Shipping Conditions

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överförs till lämplig förvaring.

Storage Conditions

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik.

För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.

STR-profil

Amelogenin: x (Patient man, Y förlorad)

CSF1PO: 10

D13S317: 11,12

D16S539: 10,11

D5S818: 11,13

D7S820: 11

TH01: 8,9

TPOX: 8

vWA: 15,17

D21S11: 30