

HROC277Met2-celler | 300848

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	Kolorektal
Disease	Adenocarcinom
Metastatic site	Lever, metastasering av primär CRC-vävnad, (Colon coecum, TNM-stadium T4N2M1R0L0V1, grad G2, Lk(n) +0, Σ Lk(n) 12)

Egenskaper

Age	78 år
Gender	Man
Ethnicity	Kaukasisk
Morphology	Epitelliknande
Growth properties	Följsam

Lagstadgade uppgifter

Citation	HROC277Met2 (Cytion katalognummer 300848)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1U88
Depositor	M. Linnebacher

Biomolekylära data

HROC277Met2-celler | 300848

Protein expression	PTEN-
Tumorigenic	Ja, i immunsupprimerade nakenmöss
Viruses	Fri från humanpatogena virus SV40, JC/BK, HBV, HCV, HIV.
MSI-status	MSS
Mutational profile	K-Rasmut, 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 NaHCO ₃ (Cytion artikelnummer 820400a)
Supplements	Komplettera mediet med 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	29 timmar
Subculturing	Ta bort det gamla mediet från de adherenta cellerna och tvätta dem med PBS som saknar kalcium och magnesium. Använd 3-5 ml PBS för T25-kolvar och 5-10 ml för T75-kolvar. Täck sedan cellerna helt med Accutase, använd 1-2 ml för T25-kolvar och 2,5 ml för T75-kolvar. Låt cellerna inkubera i rumstemperatur i 8-10 minuter så att de lossnar. Efter inkubationen, blanda cellerna försiktigt med 10 ml medium för att resuspendera dem och centrifugera sedan vid 300xg i 3 minuter. Kassera supernatanten, resuspendera cellerna i färskt medium och överför dem till nya kolvar som redan innehåller färskt medium.
Split ratio	Ett förhållande på 1:4 till 1:8 rekommenderas
Seeding density	2×10^4 celler/cm ²
Fluid renewal	Var 3:e till 5:e dag
Post-Thaw Recovery	Några dagar

HROC277Met2-celler | 300848

Freeze medium

Som kryokonserveringsmedium 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.

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-kulturkanter; 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.

HROC277Met2-celler | 300848

Freezing Procedure

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.

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

Mykoplasma kontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasma diagnostik.

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