

HROBMC01-celler | 300800

Allmän information

Description	Detta är en av en serie cellinjer för kolorektalt karcinom som har etablerats av PD Dr. Michael Linnebacher sedan 2006. Denna linje etablerades från en hjärnmetastas av ett primärt kolorektalt karcinom.
Organism	Människan
Tissue	Kolorektal
Disease	Adenocarcinom
Metastatic site	Hjärna

Applications Forskning om hjärnmetastaser vid kolorektalcancer; biologin bakom metastaser från kolorektalcancer till hjärnan; modellering av PTEN-negativ kolorektalcancer; testning av läkemedelskänslighet; biologin bakom hjärnspecifika metastaser vid kolorektalcancer; HROC-studier med patientanpassade biobanker; mekanismerna bakom metastaser till centrala nervsystemet

Egenskaper

Age	60 år
Gender	Kvinna
Ethnicity	Kaukasisk
Morphology	Epitelliknande
Cell type	Epitelial
Growth properties	Följsam

Lagstadgade uppgifter

Citation	HROBMC01 (Cytion katalognummer 300800)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606

HROBMC01-celler | 300800**CellosaurusAccession** CVCL_1D08**Depositor** M. Linnebacher**GMO Status** Ingen genetisk modifiering; en cellinje av vildtyp från en patient med hjärnmetastaser från kolorektal cancer, etablerad av PD Dr. Linnebacher**Biomolekylära data****Protein expression** PTEN-**MSI-status** MSS**Mutational profile** P53 mut, APC mut, K-RasG12VA, 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**Doubling time** 30 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** 1 till 3**Seeding density** 1×10^4 celler/cm²**Fluid renewal** Var 3:e till 5:e dag

HROBMC01-celler | 300800

Post-Thaw Recovery

Efter upptining, plattlägg cellerna med 5×10^4 celler/cm² och låt cellerna återhämta sig från frysprocessen och fästa i minst 48 timmar.

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.

Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfrys 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 °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 °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 flödesbänk 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 x 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-kulturbeläggningar; 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°C, 5% CO₂, befuktad atmosfär.

Flask Coating

Ingen

HROBMC01-celler | 300800**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 överföras 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 överföras 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 och molekyllär analys**Sterility**

Mykoplasmakontaminering 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.

STR-profil

Amelogenin: x (Patient man, Y förlorad)

CSF1PO: 10,3

D13S317: 12

D16S539: 11

D5S818: 9,13

D7S820: 8,9,11

TH01: 7,9,3

TPOX: 8,10

vWA: 18,19

D21S11: 29,32.2