

HROC32 T3 M1-celler | 300819**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. Denna cellinje härrör från en tumör i sent stadium av HROC32.
Organism	Människan
Tissue	Colon ascendens, UICC IV, etablerad från en patientderiverad xenograft primär CRC-vävnad (Colon ascendens, TNM-stadium T4N2M1R0L0V1 gradering G2, Lk(n) + 9, Σ Lk(n) 14)
Disease	Adenocarcinom
Metastatic site	Fjärrmetastaser (UICC-stadium IV; TNM T4N2M1; specifik fjärrmetastaseringsplats saknas)
Applications	Forskning om kolorektal cancer; modellering av kolorektal cancer i sent stadium; biologin hos PTEN-negativ kolorektal cancer; utvärdering av kemoterapi och målinriktad behandling; immunologi vid kolorektal cancer; studier av xenotransplantat från patienter
Synonyms	HROC32x

Egenskaper

Age	82 år
Gender	Kvinna
Ethnicity	Kaukasisk
Morphology	Epitelliknande
Cell type	Epiteliala celler
Growth properties	Följsam

Lagstadgade uppgifter

Citation	HROC32 T3 M1 (Cytion katalognummer 300819)
Biosafety level	1

HROC32 T3 M1-celler | 300819

NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1D07
Depositor	M. Linnebacher
GMO Status	Ingen genetisk modifiering; vildtyp-cellinje från kolorektalcancer hos patient, etablerad av PD Dr. Linnebacher

Biomolekylära data

Protein expression	PTEN
Antigen expression	CD15 +, CD24 +, CD44 +, CD55 +, CD58 +, CD50 +, CD 54 +, CD66acde +, CD71 +, CD102 +, CD326 +, CD80 -, CD86-, EpCAM +, HLA-A2 +
Tumorigenic	Ja, i immunsupprimerade nakenmöss
Viruses	Fri från humanpatogena virus SV40, JC/BK, HBV, HCV, HIV.
Ploidy status	Aneuploid
MSI-status	MSS
Mutational profile	APCwt, p53R282W, K-RasG12A, N-Raswt, H-Raswt SNP rs12628 vid kodon 27, PIK3CAst, BRafwt

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

HROC32 T3 M1-celler | 300819

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 2×10^4 celler/cm²

Fluid renewal Var 3:e till 5:e dag

Post-Thaw Recovery 1 till 2 veckor

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 kryounducerad stress.

HROC32 T3 M1-celler | 300819

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

Ingen

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.

Shipping Conditions

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.

HROC32 T3 M1-celler | 300819

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,x

CSF1PO: 14

D13S317: 11,12

D16S539: 11,12

D5S818: 11,12

D7S820: 8,11

TH01: 8,9

TPOX: 8,11

vWA: 19

D21S11: 31