

HROC103 T0 M1 Celice | 300802

Splošne informacije

Description	To je ena od serije celičnih linij, ki jih je doktor Michael Linnebacher od leta 2006 vzpostavil iz ksenografta PDTx (tumorja, pridobljenega od bolnika).
Organism	Človek
Tissue	Kolorektalni, Vzpostavljen iz PDx (ksenografta, pridobljenega od bolnika) primarnega tkiva CRC (Colon ascendens, stopnja TNM T2N1M0R0L0V0, stopnja G2, Lk(n) + 2, Σ Lk(n) 23).
Disease	Adenokarcinom
Metastatic site	Prizadetost regionalnih bezgavk (TNM N1; Lk(n)+2 od 23 pregledanih); brez oddaljenih metastaz (M0)
Applications	Raziskave raka debelega črevesa in danke; biologija raka debelega črevesa in danke; raziskave celičnih linij, pridobljenih iz PDx; ocena občutljivosti na zdravila in ciljno usmerjene terapije; modeliranje raka debelega črevesa in danke z mutacijami v genih p53/KRAS; imunologija raka debelega črevesa in danke tipa MSS; študije biobanke HROC, usklajene s posameznimi bolniki
Synonyms	HROC103

Značilnosti

Age	44 let
Gender	Moški
Ethnicity	Kavkaški
Morphology	Majhne celice v kolonijah
Cell type	Epitelijski
Growth properties	Pripadajoče

Regulativni podatki

Citation	HROC103 T0 M1 (kataloška številka Cytion 300802)
Biosafety level	1

HROC103 T0 M1 Celice | 300802

NCBI_TaxID 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1D10**GMO Status** Brez genske modifikacije; celična linija raka debelega črevesa (CRC) divjega tipa, pridobljena iz bolnika, ki jo je iz bolnikovega ksenotransplantata vzpostavil PD dr. Linnebacher**Biomolekularni podatki****Ploidy status** Aneuploidni**MSI-status** MSS**Mutational profile** P53 mut, APC mut, K-RasG12VA, N-Raswt, H-Raswt, PIK3CAwt, B-Rafwt**Ravnanje s spletno stranjo****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glukoze, w: 2,5 mM L-glutamina, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natrijevega piruvata, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (številka izdelka Cytion 820400a)**Supplements** Gojišče dopolnite z 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 30 ur**Subculturing** Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekritje z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavržite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.**Split ratio** 1 do 3**Seeding density** 2×10^4 celic/cm²**Fluid renewal** Vsakih 3 do 5 dni

HROC103 T0 M1 Celice | 300802**Post-Thaw Recovery**

Nekaj dni

Freeze medium

Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročene s kriom.

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu kriovial takoj shranite pri temperaturi pod $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $300 \times g$ 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , vlažno ozračje.**Flask Coating**

Nič

HROC103 T0 M1 Celice | 300802

Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vialo postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$. Shranjevanje pri $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.