

HROC32 T3 M1 celice | 300819

Splošne informacije

Description	To je ena od celičnih linij iz serije tumorskih celičnih linij, ki jih je doktor Michael Linnebacher od leta 2006 vzpostavil iz vzorcev primarnih resekcij CRC. Ta celična linija je bila pridobljena iz tumorja HROC32 v pozni fazi.
Organism	Človek
Tissue	Colon ascendens, UICC IV, Vzpostavljen iz primarnega tkiva CRC, pridobljenega s ksenograftom (Colon ascendens, stopnja TNM T4N2M1R0L0V1, razvrstitev G2, Lk(n) + 9, Σ Lk(n) 14)
Disease	Adenokarcinom
Metastatic site	Oddaljene metastaze (stopnja IV po klasifikaciji UICC; TNM T4N2M1; natančna lokacija oddaljenih metastaz ni navedena)
Applications	Raziskave raka debelega črevesa in danke; modeliranje raka debelega črevesa in danke v poznih stopnjah; biologija PTEN-negativnega raka debelega črevesa in danke; ocena kemoterapije in ciljnega zdravljenja; imunologija raka debelega črevesa in danke; študije ksenotransplantatov, pridobljenih iz bolnikov
Synonyms	HROC32x

Značilnosti

Age	82 let
Gender	Ženske
Ethnicity	Kavkaški
Morphology	Epitelijam podobni
Cell type	Epitelijske celice
Growth properties	Pripadajoče

Regulativni podatki

Citation	HROC32 T3 M1 (Cytionova kataloška številka 300819)
Biosafety level	1

HROC32 T3 M1 celice | 300819**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1D07**GMO Status** Brez genskih sprememb; celična linija raka debelega črevesa (CRC) divjega tipa, pridobljena iz bolnika, ki jo je vzpostavil PD dr. Linnebacher**Biomolekularni podatki****Protein expression** PTEN**Antigen expression** CD15 +, CD24 +, CD44 +, CD55 +, CD58 +, CD50 +, CD 54 +, CD66acde +, CD71 +, CD102 +, CD326 +, CD80 -, CD86-, EpCAM +, HLA-A2 +**Tumorigenic** Da, pri imunsko oslabljenih golih miših**Viruses** Brez človeških patogenih virusov SV40, JC/BK, HBV, HCV, HIV.**Ploidy status** Aneuploidni**MSI-status** MSS**Mutational profile** APCwt, p53R282W, K-RasG12A, N-Raswt, H-Raswt SNP rs12628 na kodonu 27, PIK3CAst, BRafwt**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

HROC32 T3 M1 celice | 300819

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 prekrijte 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. Zavrzite 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

Post-Thaw Recovery 1 do 2 tedna

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, povzročenega s kriom.

HROC32 T3 M1 celice | 300819**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°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°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°C , 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Flask Coating

Nič

**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°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°C . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

HROC32 T3 M1 celice | 300819

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vial postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Kontrola kakovosti in molekularna analiza

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.