

Cellules HROBMC01 | 300800

Renseignements généraux

Description Il s'agit d'une des lignées cellulaires de carcinome colorectal mises au point par le Dr Michael Linnebacher depuis 2006. Cette lignée a été établie à partir d'une métastase cérébrale issue d'un carcinome colorectal primaire.

Organism Humain

Tissue Colorectal

Disease Adénocarcinome

Metastatic site Cerveau

Applications Recherche sur les métastases cérébrales du cancer colorectal; biologie des métastases cérébrales du cancer colorectal; modélisation du cancer colorectal PTEN-négatif; tests de sensibilité aux médicaments; biologie des métastases cérébrales spécifiques du cancer colorectal; études sur des biobanques appariées à des patients HROC; mécanismes des métastases au SNC

Caractéristiques

Age 60 ans

Gender Femme

Ethnicity caucasien

Morphology De type épithélial

Cell type Épithélial

Growth properties Adepté

Données réglementaires

Citation HROBMC01 (numéro de catalogue Cytion 300800)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

Cellules HROBMC01 | 300800

CellosaurusAccession CVCL_1D08**GMO Status** Sans modification génétique; lignée cellulaire de métastases cérébrales issues d'un cancer colorectal de type sauvage provenant d'un patient, mise au point par le Dr Linnebacher (PD)

Données biomoléculaires

Protein expression PTEN-**MSI-status** MSS**Mutational profile** P53 mut, APC mut, K-RasG12VA, N-Raswt, H-Raswt, PIK3CAwt, B-Rafwt

Manipulation

Culture Medium DMEM : F12 de Ham (1:1), p/v : 3,1 g/L de glucose, p/v : 2,5 mM de L-glutamine, p/v : 15 mM d'HEPES, 0,5 mM de pyruvate de sodium, 1,2 g/L de NaHCO₃ (référence Cytion 820400a)**Supplements** Ajouter 10 % de FBS au milieu de culture**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 30 heures**Subculturing** Retirez l'ancien milieu des cellules adhérentes et lavez-les avec du PBS sans calcium ni magnésium. Pour les flacons T25, utilisez 3 à 5 ml de PBS, et pour les flacons T75, utilisez 5 à 10 ml. Ensuite, recouvrez complètement les cellules d'Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laissez les cellules incuber à température ambiante pendant 8 à 10 minutes afin de les détacher. Après l'incubation, mélangez délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifugez à 300 x g pendant 3 minutes. Éliminez le surnageant, remettez les cellules en suspension dans du milieu frais, puis transférez-les dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.**Split ratio** 1 à 3**Seeding density** 1×10^4 cellules/cm²**Fluid renewal** Tous les 3 à 5 jours

Cellules HROBMC01 | 300800

Post-Thaw Recovery

Après décongélation, ensemercer les cellules à une densité de 5×10^4 cellules/cm² et laisser les cellules se remettre du processus de congélation et adhérer pendant au moins 48 heures.

Freeze medium

Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (contenant du sérum foetal bovin) + 10 % de DMSO pour assurer une viabilité adéquate après décongélation, ou du CM-1 (référence Cytion 800100), qui contient des osmoprotecteurs et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryoconservation.

Thawing and Culturing Cells

1. Assurez-vous que le flacon reste bien congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche afin de maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. À la réception, conservez immédiatement le cryofiole à une température inférieure à -150 °C pour garantir la préservation de l'intégrité cellulaire, ou passez à l'étape 3 si une culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une culture immédiate, décongelez rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37 °C contenant de l'eau propre et un agent antimicrobien, en agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit morceau de glace.
4. Effectuez toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux laminaire, en désinfectant le cryotube avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrez avec précaution le flacon désinfecté et transférez la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant délicatement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules, puis jeter avec précaution le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre délicatement le culot cellulaire en suspension dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension dans deux flacons de culture T25; pour les cultures en suspension, transférer la totalité du milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance cellulaires efficaces.
8. Respectez les protocoles de sous-culture établis pour assurer la croissance continue et le maintien de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % de CO₂, atmosphère humidifiée.

Cellules HROBMC01 | 300800

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées dans de la glace sèche, dans un emballage isotherme validé contenant suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78°C pendant tout le transport. À la réception, inspectez immédiatement le conteneur et transférez sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placez les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre environ -150 et -196°C . L'entreposage à -80°C n'est acceptable qu'à titre d'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle de la qualité et analyse moléculaire

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes par luminescence.

Afin de s'assurer qu'il n'y a aucune contamination bactérienne, fongique ou par des levures, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.