

## HROC222 Клетки T1 M2 | 300859

## Обща информация

## Description

HROC222 T1 M2 е клетъчна линия на човешки колоректален аденокарцином, създадена в рамките на колекцията от модели HROC (Hansestadt Rostock Colorectal Cancer) от първична туморна резекция на възрастен пациент. Означението „T1“ показва, че пробата е получена при първата хирургична интервенция, а „M2“ обозначава съответния in vitro модел, създаден от този тумор. Платформата HROC интегрира цялостно биобанкиране, стандартизирано молекулярно аотиране и паралелно създаване на ксенографи, получени от пациенти (PDX), и постоянни клетъчни линии с нисък пасаж, което позволява клинично аотирани транслационни изследователски модели.

Генерирането на HROC222 T1 M2 следва стандартизирани процедури, включващи механично разграждане на прясно резецирана туморна тъкан, подготовка на суспензии от единични клетки и засяване върху покрити с колаген културални плаки в определена туморна клетъчна културална среда, допълнена с глутамин, антибиотици и антимиотици. В кохортата HROC постоянни първични клетъчни линии на колоректален рак бяха успешно създадени от приблизително 13% от проучените проби. Статистическият анализ идентифицира по-високата степен на тумора като значително свързана с успешното създаване на първична клетъчна линия, докато напредналото състояние на лимфните възли показва положителна тенденция. В многовариантния анализ на колекцията участието на лимфните възли се оказа независим предиктор за успеха на създаването на модела.

Колекцията HROC обхваща всички основни молекулярни подтипове на колоректален карцином, включително хромозомна нестабилност (CIN), фенотип на метилатор на CpG острови (CIMP), микросателитна стабилност (MSS) и микросателитна нестабилност с висока степен (MSI-H), както и разнообразни мутационни фонове, засягащи ключови гени като KRAS, BRAF, TP53, APC и PIK3CA. HROC222 T1 M2 е създаден в рамките на тази строго характеризирана рамка, което позволява интегриране с подробни клиникопатологични и молекулярни данни и, когато е наличен, съответния PDX материал. Като модел на колоректален карцином с нисък пасаж, получен от пациент, HROC222 T1 M2 е подходящ за изследвания на туморната биология, взаимоотношенията между генотип и фенотип и предклинични терапевтични тестове в рамките на прецизната онкологична научна дейност.

**Organism** Човек

**Tissue** Напречно дебело черво

**Disease** Аденокарцином

## Характеристики

**Age** 79 години

**Gender** Мъжки

**Ethnicity** Кавказки

## HROC222 Клетки T1 M2 | 300859

**Growth properties** Придържачи се

**Регулаторни данни**

**Citation** HROC222 T1 M2 (каталожен номер 300859 на Cytion)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_VQ93

**Биомолекулярни данни****Работа с**

**Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L глюкоза, w: 2,5 mM L-глутамин, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM натриев пируват, w: 1,2 g/L NaHCO<sub>3</sub> (номер на изделието на Cytion 820400a)

**Supplements** Допълнете средата с 10% FBS

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.

**Fluid renewal** На всеки 3 до 5 дни

**Freeze medium** Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

**HROC222 Клетки T1 M2 | 300859****Thawing and  
Culturing Cells**

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикуробен агент с температура  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при  $300\text{ x g}$  в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

**Incubation  
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , овлажнена атмосфера.

**Flask Coating**

Няма

**Freezing  
Procedure**

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

## HROC222 Клетки T1 M2 | 300859

### Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително  $-78^{\circ}\text{C}$  по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

### Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около  $-150$  до  $-196^{\circ}\text{C}$ . Съхранението при  $-80^{\circ}\text{C}$  е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

## Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

### Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.