

HROC300 T2 M1 Клетки | 300866

Обща информация

Description

HROC300 T2 M1 е клетъчна линия от човешки колоректален карцином, получена от проба от първична туморна тъкан, резецирана от възрастен пациент в рамките на колекцията от модели HROC (Hansestadt Rostock Colorectal Cancer). Означението „T2“ показва, че туморът е получен при втора хирургична интервенция, а „M1“ обозначава съответния *in vitro* модел, създаден от този образец. Платформата HROC интегрира цялостно биобанкиране със стандартизирано създаване на ксенографти, получени от пациенти (PDX), и постоянни клетъчни линии с нисък пасаж, което позволява създаването на молекулярно анотирани туморни модели от последователни случаи на колоректален рак.

Създаването на HROC300 T2 M1 следва стандартизиран протокол, включващ механично разграждане на прясно резецирана туморна тъкан, филтриране за получаване на суспензии от единични клетки и засяване върху покрити с колаген културални плаки в определена туморна клетъчна културална среда, допълнена с глутамин, антибиотици и антимицитици. В кохортата HROC постоянни първични клетъчни линии бяха генерирани от приблизително 13% от пробите на колоректален карцином, като успешното създаване корелира в едновариантен анализ с по-висока степен на тумор и напреднал лимфен статус. Многовариантен анализ идентифицира лимфното засягане като независим предиктор за успешно създаване на *in vitro* модел. Тези резултати отразяват обогатяването на биологично агресивни фенотипи сред успешно адаптираните култури.

В рамките на по-широката колекция HROC моделите обхващат 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 гени като KRAS, BRAF, TP53, APC и PIK3CA. HROC300 T2 M1 е създаден в този строго анотиран контекст, което позволява интеграция с подходящи клиникопатологични данни и, където е налично, съответния PDX материал. Като модел на колоректален карцином с нисък пасаж, получен от пациент, HROC300 T2 M1 е подходящ за изследвания на туморната биология, асоциации между генотип и фенотип и предклинични терапевтични тестове в рамките на прецизната онкология.

Organism

Човек

Tissue

Колоректален

Disease

Аденокарцином, TNM стадий T4aN1bM1R2L0V1, градиране G2, Lk(n) + 3, Σ Lk(n) 22

Характеристики

Age

73 години

Gender

Мъжки

Ethnicity

Кавказки

HROC300 T2 M1 Клетки | 300866

Growth properties Придържачи се

Регулаторни данни

Citation HROC300 T2 M1 (каталожен номер 300866 на Cytion)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_VQ94

Биомолекулярни данни

MSI-status MSS

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 NaHCO₃ (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.

HROC300 T2 M1 Клетки | 300866

**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 антимикробен 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 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% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

За оптимално прикрепване и жизнеспособност след размразяване препоръчваме да се използват **колби или плаки с колагеново покритие**.

**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.

HROC300 T2 M1 Клетки | 300866

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°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°C . Съхранението при -80°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.