

Buňky HROC300 T2 M1 | 300866

Obecné informace

Description

HROC300 T2 M1 je lidská buněčná linie kolorektálního karcinomu odvozená z primárního nádorového vzorku resekovaného u dospělého pacienta v rámci modelové sbírky HROC (Hansestadt Rostock Colorectal Cancer). Označení „T2“ znamená, že nádor byl získán při druhém chirurgickém zákroku, zatímco „M1“ označuje odpovídající in vitro model vytvořený z tohoto vzorku. Platforma HROC integruje komplexní biobanking se standardizovanou tvorbou xenotransplantátů odvozených od pacientů (PDX) a trvalých buněčných linií s nízkým počtem pasáží, což umožňuje molekulárně anotované nádorové modely z po sobě jdoucích případů kolorektálního karcinomu.

Vytvoření HROC300 T2 M1 proběhlo podle standardizovaného protokolu zahrnujícího mechanickou disociaci čerstvě resekované nádorové tkáně, filtraci za účelem získání suspenzí jednotlivých buněk a výsev na kolagenem potažené kultivační destičky v definovaném kultivačním médiu nádorových buněk doplněném glutaminem, antibiotiky a antimykotiky. V celé kohortě HROC byly trvalé primární buněčné linie vytvořeny z přibližně 13 % pokusných vzorků kolorektálního karcinomu, přičemž úspěšné vytvoření korelovalo v univariantské analýze s vyšším stupněm nádoru a pokročilým stavem uzlin. Multivariantská analýza identifikovala postižení uzlin jako nezávislý prediktor úspěšného vytvoření in vitro modelu. Tyto nálezy odrážejí obohacení biologicky agresivních fenotypů mezi úspěšně adaptovanými kulturami.

V rámci širší sbírky HROC zahrnují modely všechny hlavní molekulární podtypy kolorektálního karcinomu, včetně chromozomální nestability (CIN), fenotypu metylátoru CpG ostrova (CIMP), mikrosatelitové stability (MSS) a mikrosatelitové nestability s vysokou mírou (MSI-H), jakož i různorodé mutační pozadí ovlivňující geny, jako jsou KRAS, BRAF, TP53, APC a PIK3CA. HROC300 T2 M1 byl vytvořen v tomto přísně anotovaném kontextu, což umožňuje integraci s odpovídajícími klinicko-patologickými údaji a, pokud jsou k dispozici, s odpovídajícím PDX materiálem. Jako model kolorektálního karcinomu s nízkým počtem pasáží odvozený od pacienta je HROC300 T2 M1 vhodný pro studie biologie nádorů, asociací genotypu a fenotypu a preklinického terapeutického testování v rámci přesné onkologie.

Organism Člověk

Tissue Kolorektální

Disease Adenokarcinom, TNM stadium T4aN1bM1R2L0V1, grading G2, Lk(n) + 3, Σ Lk(n) 22

Charakteristika

Age 73 let

Gender Muži

Ethnicity Kavkazský

Growth properties Adherentní

Buňky HROC300 T2 M1 | 300866

Regulační údaje

| | |
|-----------------------------|--|
| Citation | HROC300 T2 M1 (katalogové číslo Cytion 300866) |
| Biosafety level | 1 |
| NCBI_TaxID | 9606 |
| CellosaurusAccession | CVCL_VQ94 |
| Depositor | M. Linnebacher |

Biomolekulární data

| | |
|-------------------|-----|
| MSI-status | MSS |
|-------------------|-----|

Zpracování

| | |
|-----------------------------|--|
| Culture Medium | DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glukózy, w: 2,5 mM L-Glutaminu, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM pyruvátu sodného, w: 1,2 g/l NaHCO ₃ (číslo výrobku Cytion 820400a) |
| Supplements | Doplňte médium o 10% FBS |
| Dissociation Reagent | Accutase |
| Subculturing | Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpusťte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium. |
| Fluid renewal | Každých 3 až 5 dní |
| Freeze medium | Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo. |

Buňky HROC300 T2 M1 | 300866

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Pro optimální uchycení a životaschopnost po rozmrazení doporučujeme používat **baňky nebo destičky potažené kolagenem**.

Freezing Procedure

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Buňky HROC300 T2 M1 | 300866

Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.

Profil STR

CSF1PO: 10,12
D13S317: 8,10
D16S539: 12
D5S818: 13.1
D7S820: 10,11
TH01: 8,9.3
TPOX: 8,8.3
vWA: 17.1