

HROC300 T2 M1-celler | 300866

General information

Description

HROC300 T2 M1 er en human kolorektal karcinomcellelinje, der stammer fra en primær tumorprøve, der er resekeret fra en voksen patient inden for HROC-modellsamlingen (Hansestadt Rostock Colorectal Cancer). Betegnelsen "T2" angiver, at tumoren blev udtaget ved en anden kirurgisk indgreb, mens "M1" angiver den tilsvarende in vitro-model, der er etableret ud fra denne prøve. HROC-plattformen integrerer omfattende biobanking med standardiseret generering af patientafledte xenotransplantater (PDX) og permanente cellelinjer med lav passage, hvilket muliggør molekylært annoterede tumormodeller fra på hinanden følgende kolorektale kræfttilfælde.

Etableringen af HROC300 T2 M1 fulgte en standardiseret protokol, der involverede mekanisk dissociation af frisk resekeret tumornæv, filtrering for at opnå enkeltcellesuspensioner og udsåning på kollagenbelagte kulturplader i defineret tumorcellekulturmedium tilsat glutamin, antibiotika og antimykotika. På tværs af HROC-kohorten blev der genereret permanente primære cellelinjer fra ca. 13 % af de forsøgte kolorektale karcinomprøver, hvor en vellykket etablering i univariat analyse korrelerede med højere tumorstadium og avanceret nodalstatus. Multivariat analyse identificerede nodal involvering som en uafhængig prädiktor for vellykket etablering af in vitro-modeller. Disse fund afspejler berigelsen af biologisk aggressive fænotyper blandt vellykkede tilpassede kulturer.

Inden for den bredere HROC-samling omfatter modellerne alle vigtige molekylære undertyper af kolorektal karcinom, herunder kromosomale ustabilitet (CIN), CpG-ø-metyleringsfænotype (CIMP), mikrosatellitstabilitet (MSS) og mikrosatellitustabilitet-høj (MSI-H) tumorer, samt forskellige mutationsbaggrunde, der påvirker gener som KRAS, BRAF, TP53, APC og PIK3CA. HROC300 T2 M1 blev genereret i denne strengt annoterede kontekst, hvilket muliggør integration med matchede klinisk-patologiske data og, hvor det er tilgængeligt, tilsvarende PDX-materiale. Som en lavpassage, patientafledt kolorektal karcinommodel er HROC300 T2 M1 velegnet til studier af tumorbiologi, genotype-fenotype-associationer og prækliniske terapeutiske test inden for en præcisionsonkologisk ramme.

Organism Menneske

Tissue Kolorektal

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

Karakteristika

Age 73 år

Gender Mand

Ethnicity Kaukasisk

Growth properties Vedhæftende

HROC300 T2 M1-celler | 300866**Regulatoriske data****Citation** HROC300 T2 M1 (Cytion katalognummer 300866)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_VQ94**Biomolekylære data****MSI-status** MSS**Håndtering****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L Glucose, w: 2,5 mM L-Glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM Sodium pyruvate, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820400a)**Supplements** Suppler mediet med 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspendere cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.**Fluid renewal** Hver 3. til 5. dag**Freeze medium** Som kryopræservationsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.

HROC300 T2 M1-celler | 300866

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befugtet atmosfære.

Flask Coating

For at opnå optimal vedhæftning og levedygtighed efter optøning anbefaler vi at bruge **kollagenbelagte kolber eller plader**.

Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

HROC300 T2 M1-celler | 300866

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.