

HROC300 T2 M1-Zellen | 300866

Allgemeine Informationen

Description

HROC300 T2 M1 ist eine humane kolorektale Karzinomzelllinie, die aus einer Primärtumorprobe stammt, die einem erwachsenen Patienten im Rahmen der HROC-Modellsammlung (Hansestadt Rostock Colorectal Cancer) entnommen wurde. Die Bezeichnung „T2“ gibt an, dass der Tumor bei einer zweiten Operation entnommen wurde, während „M1“ das entsprechende In-vitro-Modell bezeichnet, das aus dieser Probe hergestellt wurde. Die HROC-Plattform integriert umfassendes Biobanking mit der standardisierten Herstellung von patientenabgeleiteten Xenotransplantaten (PDX) und permanenten Zelllinien mit geringer Passagezahl, wodurch molekular annotierte Tumormodelle aus aufeinanderfolgenden Darmkrebsfällen ermöglicht werden.

Die Etablierung von HROC300 T2 M1 erfolgte nach einem standardisierten Protokoll, das die mechanische Dissoziation von frisch reseziertem Tumorgewebe, die Filtration zur Gewinnung von Einzelzellsuspensionen und die Aussaat auf kollagenbeschichtete Kulturplatten in definiertem Tumorzellkulturmedium, ergänzt mit Glutamin, Antibiotika und Antimykotika, umfasste. In der gesamten HROC-Kohorte wurden aus etwa 13 % der untersuchten kolorektalen Karzinomproben permanente Primärzelllinien erzeugt, wobei die erfolgreiche Etablierung in der univariaten Analyse mit einem höheren Tumorgrad und einem fortgeschrittenen Lymphknotenstatus korrelierte. Die multivariate Analyse identifizierte die Lymphknotenbeteiligung als unabhängigen Prädiktor für die erfolgreiche Etablierung eines In-vitro-Modells. Diese Ergebnisse spiegeln die Anreicherung biologisch aggressiver Phänotypen unter den erfolgreich adaptierten Kulturen wider.

Innerhalb der breiteren HROC-Sammlung umfassen die Modelle alle wichtigen molekularen Subtypen des kolorektalen Karzinoms, einschließlich chromosomaler Instabilität (CIN), CpG-Insel-Methylator-Phänotyp (CIMP), mikrosatellitenstabiler (MSS) und mikrosatelliteninstabiler (MSI-H) Tumoren sowie verschiedener Mutationshintergründe, die Gene wie KRAS, BRAF, TP53, APC und PIK3CA. HROC300 T2 M1 wurde in diesem streng annotierten Kontext erzeugt, was die Integration mit passenden klinisch-pathologischen Daten und, sofern verfügbar, entsprechendem PDX-Material ermöglicht. Als Low-Passage-Modell für kolorektales Karzinom, das von Patienten stammt, eignet sich HROC300 T2 M1 für Studien zur Tumorbioogie, zu Genotyp-Phänotyp-Assoziationen und für präklinische therapeutische Tests im Rahmen der Präzisionsonkologie.

Organism Menschen

Tissue Kolorektal

Disease Adenokarzinom, TNM-Stadium T4aN1bM1R2L0V1, Grading G2, Lk(n) + 3, Σ Lk(n) 22

Merkmale

Age 73 Jahre

Gender Männlich

Ethnicity Kaukasisch

Growth properties Adhärent

HROC300 T2 M1-Zellen | 300866**Regulatorische Daten**

Citation	HROC300 T2 M1 (Cytion Katalognummer 300866)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_VQ94
Depositor	M. Linnebacher

Biomolekulare Daten

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

Handhabung

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 Natriumpyruvat, w: 1,2 g/L NaHCO ₃ (Cytion-Artikelnummer 820400a)
Supplements	Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Entfernen Sie das alte Medium von den adhären Zellen und waschen Sie sie mit PBS, das kein Kalzium und Magnesium enthält. Für T25-Kolben 3-5 ml PBS und für T75-Kolben 5-10 ml verwenden. Anschließend werden die Zellen vollständig mit Accutase bedeckt, wobei 1-2 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben verwendet werden. Lassen Sie die Zellen 8-10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, um sie abzulösen. Nach der Inkubation mischen Sie die Zellen vorsichtig mit 10 ml Medium, um sie zu resuspendieren, und zentrifugieren sie dann 3 Minuten lang bei 300xg. Den Überstand verwerfen, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Kolben überführen, die bereits frisches Medium enthalten.
Fluid renewal	Alle 3 bis 5 Tage
Freeze medium	Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

HROC300 T2 M1-Zellen | 300866

Thawing and Culturing Cells

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei $300 \times g$, um die Zellen abzutrennen, und werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhären Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , befeuchtete Atmosphäre.

Flask Coating

Keine

Freezing Procedure

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

HROC300 T2 M1-Zellen | 300866

Shipping Conditions

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Storage Conditions

Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Qualitätskontrolle / Genetisches Profil / HLA

Sterility

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.

Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.

STR-Profil

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