

Κύτταρα HROC222 T1 M2 | 300859

Γενικές πληροφορίες

Description

Το HROC222 T1 M2 είναι μια ανθρώπινη κυτταρική σειρά αδενοκαρκινώματος του παχέος εντέρου που δημιουργήθηκε στο πλαίσιο της συλλογής μοντέλων HROC (Hansestadt Rostock Colorectal Cancer) από έναν πρωτογενή όγκο που αφαιρέθηκε από έναν ενήλικα ασθενή. Ο χαρακτηρισμός «T1» υποδηλώνει ότι το δείγμα ελήφθη κατά την πρώτη χειρουργική επέμβαση, ενώ «M2» υποδηλώνει το αντίστοιχο in vitro μοντέλο που δημιουργήθηκε από αυτόν τον όγκο. Η πλατφόρμα HROC ενσωματώνει ολοκληρωμένη βιοτράπεζα, τυποποιημένη μοριακή σχολιασμό και παράλληλη δημιουργία ξενομοσχευμάτων που προέρχονται από ασθενείς (PDX) και μόνιμων κυτταρικών σειρών χαμηλής διέλευσης, επιτρέποντας κλινικά σχολιασμένα μεταφραστικά ερευνητικά μοντέλα.

Η δημιουργία του HROC222 T1 M2 ακολούθησε τυποποιημένες διαδικασίες που περιελάμβαναν μηχανική διάσπαση του πρόσφατα εκτομισθέντος καρκινικού ιστού, προετοιμασία εναιωρημάτων μονοκυττάρων και σπορά σε καλλιεργητικές πλάκες επικαλυμμένες με κολλαγόνο σε καθορισμένο μέσο καλλιέργειας καρκινικών κυττάρων συμπληρωμένο με γλουταμίνη, αντιβιοτικά και αντιμυκητιασικά. Σε ολόκληρη την κοόρτη HROC, μόνιμες πρωτογενείς κυτταρικές σειρές καρκίνου του παχέος εντέρου δημιουργήθηκαν με επιτυχία από περίπου το 13% των δειγμάτων που δοκιμάστηκαν. Η στατιστική ανάλυση εντόπισε ότι η υψηλότερη βαθμολογία όγκου συσχετίζεται σημαντικά με την επιτυχή δημιουργία πρωτογενούς κυτταρικής σειράς, ενώ η προχωρημένη κατάσταση των λεμφαδένων έδειξε θετική τάση. Στην πολυπαραγοντική ανάλυση σε ολόκληρη τη συλλογή, η εμπλοκή των λεμφαδένων αναδείχθηκε ως ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας για την επιτυχία της δημιουργίας μοντέλου.

Η συλλογή HROC περιλαμβάνει όλους τους κύριους μοριακούς υποτύπους του καρκίνου του παχέος εντέρου, συμπεριλαμβανομένων των όγκων με χρωμοσωμική αστάθεια (CIN), φαινότυπο μεθυλίωσης νησίδων CpG (CIMP), σταθερότητα μικροδορυφόρων (MSS) και υψηλή αστάθεια μικροδορυφόρων (MSI-H), καθώς και ποικίλα μεταλλακτικά υπόβαθρα που επηρεάζουν βασικά γονίδια όπως τα KRAS, BRAF, TP53, APC και PIK3CA. Το HROC222 T1 M2 δημιουργήθηκε μέσα σε αυτό το αυστηρά χαρακτηρισμένο πλαίσιο, επιτρέποντας την ενσωμάτωση με λεπτομερή κλινικοπαθολογικά και μοριακά δεδομένα και, όπου είναι διαθέσιμο, αντίστοιχο υλικό PDX. Ως μοντέλο καρκίνου του παχέος εντέρου χαμηλής διέλευσης, που προέρχεται από ασθενείς, το HROC222 T1 M2 είναι κατάλληλο για έρευνες σχετικά με τη βιολογία των όγκων, τις σχέσεις γονότυπου-φαινότυπου και τις προκλινικές θεραπευτικές δοκιμές στο πλαίσιο της έρευνας στην ογκολογία ακριβείας.

Organism	Ανθρώπινο
Tissue	Εγκάρσιο κόλον
Disease	Αδενοκαρκίνωμα

Χαρακτηριστικά

Age	79 χρόνια
Gender	Άντρας
Ethnicity	Καυκάσιος

Κύτταρα HROC222 T1 M2 | 300859

Growth properties Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation HROC222 T1 M2 (αριθμός καταλόγου Cytion 300859)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_VQ93

Βιομοριακά δεδομένα**Χειρισμός**

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L γλυκόζη, w: 2,5 mM L-γλουταμίνη, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM πυροϋβικό νάτριο, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (αριθμός άρθρου Cytion 820400a)

Supplements Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.

Fluid renewal Κάθε 3 έως 5 ημέρες

Freeze medium Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

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

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρουφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρουφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα $300 \times g$ για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Κανένα

**Freezing
Procedure**

Οι κρουσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Κύτταρα HROC222 T1 M2 | 300859

Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196°C . Η αποθήκευση στους -80°C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

Sterility

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.