

## Κύτταρα HROC300 T2 M1 | 300866

### Γενικές πληροφορίες

#### Description

Το HROC300 T2 M1 είναι μια ανθρώπινη κυτταρική σειρά καρκίνου του παχέος εντέρου που προέρχεται από δείγμα πρωτογενούς όγκου που αφαιρέθηκε από ενήλικα ασθενή στο πλαίσιο της συλλογής μοντέλων HROC (Hansestadt Rostock Colorectal Cancer). Ο χαρακτηρισμός «T2» υποδηλώνει ότι ο όγκος ελήφθη κατά τη δεύτερη χειρουργική επέμβαση, ενώ «M1» υποδηλώνει το αντίστοιχο in vitro μοντέλο που δημιουργήθηκε από αυτό το δείγμα. Η πλατφόρμα HROC ενσωματώνει ολοκληρωμένη βιοτράπεζα με τυποποιημένη παραγωγή ξενομοσχευμάτων που προέρχονται από ασθενείς (PDX) και μόνιμες κυτταρικές σειρές χαμηλής διέλευσης, επιτρέποντας τη δημιουργία μοριακά σχολιασμένων μοντέλων όγκων από διαδοχικές περιπτώσεις καρκίνου του παχέος εντέρου.

Η δημιουργία του HROC300 T2 M1 ακολούθησε ένα τυποποιημένο πρωτόκολλο που περιελάμβανε μηχανική διάσπαση του πρόσφατα εκτομισθέντος καρκινικού ιστού, διήθηση για την απόκτηση εναιωρημάτων μονών κυττάρων 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 δημιουργήθηκαν από περίπου 13% των δειγμάτων καρκίνου του παχέος εντέρου που εξετάστηκαν, με την επιτυχή δημιουργία να συσχετίζεται σε μονομεταβλητή ανάλυση με υψηλότερη βαθμολογία όγκου και προχωρημένη κατάσταση των λεμφαδένων. Η πολυμεταβλητή ανάλυση προσδιόρισε τη συμμετοχή των λεμφαδένων ως ανεξάρτητο προγνωστικό παράγοντα για την επιτυχή δημιουργία μοντέλου in vitro. Αυτά τα ευρήματα αντικατοπτρίζουν τον εμπλουτισμό των βιολογικά επιθετικών φαινοτύπων μεταξύ των επιτυχώς προσαρμοσμένων καλλιερχειών.

Στο ευρύτερο πλαίσιο της συλλογής HROC, τα μοντέλα περιλαμβάνουν όλους τους κύριους μοριακούς υποτύπους του καρκίνου του παχέος εντέρου, συμπεριλαμβανομένων των όγκων με χρωμοσωμική αστάθεια (CIN), φαινότυπο μεθυλιωτή νησίδας CpG (CIMP), σταθερότητα μικροδορυφόρων (MSS) και υψηλή αστάθεια μικροδορυφόρων (MSI-H), καθώς και ποικίλα μεταλλακτικά υπόβαθρα που επηρεάζουν γονίδια όπως τα KRAS, BRAF, TP53, APC και PIK3CA. Το HROC300 T2 M1 δημιουργήθηκε σε αυτό το αυστηρά σχολιασμένο πλαίσιο, επιτρέποντας την ενσωμάτωση με αντίστοιχα κλινικοπαθολογικά δεδομένα και, όπου είναι διαθέσιμα, αντίστοιχο υλικό PDX. Ως μοντέλο καρκίνου του παχέος εντέρου χαμηλής διέλευσης, που προέρχεται από ασθενείς, το HROC300 T2 M1 είναι κατάλληλο για μελέτες της βιολογίας των όγκων, των συσχετίσεων γονότυπου-φαινότυπου και των προκλινικών θεραπευτικών δοκιμών σε ένα πλαίσιο ακριβείας στην ογκολογία.

#### Organism

Ανθρώπινο

#### Tissue

Κολοορθικό

#### Disease

Αδενοκαρκίνωμα, στάδιο TNM T4aN1bM1R2L0V1, ταξινόμηση G2, Lk(n) + 3, Σ Lk(n) 22

### Χαρακτηριστικά

#### Age

73 χρόνια

#### Gender

Άντρας

#### Ethnicity

Καυκάσιος

## Κύτταρα HROC300 T2 M1 | 300866

**Growth properties** Προσκολλημένο

## Ρυθμιστικά δεδομένα

**Citation** HROC300 T2 M1 (αριθμός καταλόγου Cytion 300866)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_VQ94

## Βιομοριακά δεδομένα

**MSI-status** MSS

## 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 πυρουβικό νάτριο, w: 1,2 g/L NaHCO<sub>3</sub> (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 HROC300 T2 M1 | 300866****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  $-150^{\circ}\text{C}$  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  $37^{\circ}\text{C}$  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 x 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**

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

**Flask Coating**

Για βέλτιστη προσκόλληση και βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, συνιστούμε τη χρήση **φιαλών ή πλακών με επικάλυψη κολλαγόνου**.

**Freezing  
Procedure**

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

## Κύτταρα HROC300 T2 M1 | 300866

### Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των  $-78^{\circ}\text{C}$  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  $-196^{\circ}\text{C}$ . Η αποθήκευση στους  $-80^{\circ}\text{C}$  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.