

HROC222 T1 M2 rakud | 300859

Üldine teave

Description

HROC222 T1 M2 on inimese kolorektaalne adenokartsinoomi rakuliin, mis on loodud HROC (Hansestadt Rostock Colorectal Cancer) mudelikogus täiskasvanud patsiendilt eemaldatud primaarse kasvaja põhjal. Tähis „T1” näitab, et proov võeti esimese operatsiooni ajal, „M2” tähistab aga sellest kasvajast loodud vastavat in vitro mudelit. HROC platvorm ühendab endas tervikliku biopanga, standardiseeritud molekulaarse annotatsiooni ning patsiendilt saadud ksenotransplantaatide (PDX) ja püsivate madala passaažiga rakuliinide paralleelse loomise, võimaldades kliiniliselt annotatsioonidega translaatsioonilisi uurimismudeleid.

HROC222 T1 M2 loomine toimus standardiseeritud protseduuri järgi, mis hõlmas värskelt eemaldatud kasvajakoe mehaanilist dissotsiatsiooni, üherakuliste suspensioonide valmistamist ja külvamist kollageeniga kaetud kultuurplaatidele määratletud kasvajarakkude kultuurikeskkonnas, millele oli lisatud glutamiini, antibiootikume ja antimükotikume. Kogu HROC-kohortis loodi püsivad primaarse kolorektaalse vähi rakuliinid edukalt ligikaudu 13% proovitud proovidest. Statistiline analüüs tuvastas, et kõrgem kasvaja klassifikatsioon oli oluliselt seotud edukate primaarse rakuliini loomisega, samas kui kaugelearenenud lümfisõlmede seisund näitas positiivset suundumust. Kogu kollektiooni mitme muutuja analüüsis ilmnes, et lümfisõlmede kaasatus oli mudeli loomise edu sõltumatu ennustaja.

HROC-kogu hõlmab kõiki peamisi kolorektaalse kartsinoomi molekulaarseid alatüüpe, sealhulgas kromosoomide ebastabiilsust (CIN), CpG-saarte metülatsoonifenotüüpi (CIMP), mikrosatelliitide stabiilsust (MSS) ja mikrosatelliitide kõrget ebastabiilsust (MSI-H) ning mitmesuguseid mutatsioonilisi taustu, mis mõjutavad olulisi juhtgeene, nagu KRAS, BRAF, TP53, APC ja PIK3CA. HROC222 T1 M2 loodi selle rangelt iseloomustatud raamistiku piires, mis võimaldab integreerida üksikasjalikke kliinilis-patoloogilisi ja molekulaarseid andmeid ning, kui need on kättesaadavad, vastavat PDX-materjali. Madala passaažiga, patsientidelt saadud kolorektaalse kartsinoomi mudelina sobib HROC222 T1 M2 kasvaja bioloogia, genotüübi-fenotüübi suhete ja prekliiniliste terapeutiliste katsete uurimiseks täppisonkoloogia uuringutes.

Organism Inimene

Tissue Transversaalne käärsoolestik

Disease Adenokartsinoom

Omadused

Age 79 aastat

Gender Mees

Ethnicity Kaukaasia

Growth properties Kinnipeetav

HROC222 T1 M2 rakud | 300859**Regulatiivsed andmed**

Citation	HROC222 T1 M2 (Cytioni katalooginumber 300859)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_VQ93

Biomolekulaarsed andmed**Töötlemine**

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glükoosi, w: 2,5 mM L-glutamiini, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM naatriumpüruvaati, w: 1,2 g/L NaHCO ₃ (Cytioni artikli number 820400a)
Supplements	Täiendada söötme 10% FBS-ga
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Eemaldage kleepunud rakkudel vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.
Fluid renewal	Iga 3 kuni 5 päeva tagant
Freeze medium	Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

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

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

**Freezing
Procedure**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Shipping
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

HROC222 T1 M2 rakud | 300859

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.