

HROC300 T2 M1 rakud | 300866

Üldine teave

Description

HROC300 T2 M1 on inimese kolorektaalse kartsinoomi rakuliin, mis on saadud HROC (Hansestadt Rostock Colorectal Cancer) mudelikogust täiskasvanud patsiendilt resektsioonitud primaarse kasvaja proovist. Tähis „T2” näitab, et kasvaja saadi teisel kirurgilisel hetkel, samas kui „M1” tähistab sellest proovist loodud vastavat in vitro mudelit. HROC platvorm integreerib tervikliku biopanga standardiseeritud patsiendilt saadud ksenotransplantaatide (PDX) ja püsivate madala passaažiga rakuliinide loomisega, võimaldades molekulaarselt märgistatud kasvajamudeleid järjestikustest kolorektaalse vähi juhtudest.

HROC300 T2 M1 loomine toimus standardiseeritud protokoll järgi, mis hõlmas värskelt resekteeritud kasvajakoe mehaanilist dissotsiatsiooni, filtreerimist üherakuliste suspensioonide saamiseks ja külvamist kollageeniga kaetud kultuurplaatidele määratletud kasvajarakkude kultuurikeskkonnas, millele oli lisatud glutamiini, antibiootikume ja antimükotikume. Kogu HROC-kohordis loodi püsivad primaarrakuliinid ligikaudu 13% kolorektaalse kartsinoomi proovide puhul, kusjuures edukas loomine korreleerus ühe muutuja analüüsis kõrgemate kasvajate astmete ja arenenud lümfisõlmede seisundiga. Mitme muutuja analüüs tuvastas lümfisõlmede kaasatuse kui sõltumatu ennustaja edukaks in vitro mudeli loomiseks. Need tulemused peegeldavad bioloogiliselt agressiivsete fenotüüpide rikastumist edukalt kohandatud kultuuride seas.

Laiemas HROC kogus hõlmavad mudelid kõiki kolorektaalse kartsinoomi peamisi 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 selliseid geene nagu KRAS, BRAF, TP53, APC ja PIK3CA. HROC300 T2 M1 loodi selles rangelt kommenteeritud kontekstis, võimaldades integreerimist sobivate kliinilis-patoloogiliste andmetega ja, kui need on kättesaadavad, vastava PDX-materjaliga. Madala passaažiga, patsientidelt saadud kolorektaalse kartsinoomi mudelina sobib HROC300 T2 M1 kasvajabioloogia, genotüübi-fenotüübi seoste ja prekliiniliste terapeutiliste katsete uurimiseks täppisnõukoloogia raamistikus.

Organism Inimene

Tissue Kolorektaalne

Disease Adenokartsinoom, TNM staadium T4aN1bM1R2L0V1, liigitus G2, Lk(n) + 3, Σ Lk(n) 22

Omadused

Age 73 aastat

Gender Mees

Ethnicity Kaukaasia

Growth properties Kinnipeetav

HROC300 T2 M1 rakud | 300866**Regulatiivsed andmed****Citation** HROC300 T2 M1 (Cytioni katalooginumber 300866)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_VQ94**Biomolekulaarsed andmed****MSI-status** MSS**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 NaHCO₃ (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.

HROC300 T2 M1 rakud | 300866

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°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°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 rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x 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 söötmekekkond 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°C , 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Optimaalse kinnitumise ja elujõulisuse tagamiseks pärast sulatamist soovitame kasutada **kollageeniga kaetud koldeid või plaate**.

Freezing Procedure

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

HROC300 T2 M1 rakud | 300866

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.