

HROC222 T1 M2-solut | 300859

Yleisiä tietoja

Description

HROC222 T1 M2 on ihmisen kolorektaalinen adenokarsinoomasolulinja, joka on perustettu HROC (Hansestadt Rostock Colorectal Cancer) -mallikokoelmaan aikuispotilaalta resektoidusta primaarikasvaimesta. Merkintä "T1" tarkoittaa, että näyte on otettu ensimmäisen leikkauksen yhteydessä, kun taas "M2" tarkoittaa vastaavaa in vitro -mallia, joka on luotu tästä kasvaimesta. HROC-alusta yhdistää kattavan biopankin, standardoidun molekyyliannotaatioin ja potilaista peräisin olevien ksenotransplantaattien (PDX) ja pysyvien matalan passageluvun solulinjojen rinnakkaisen perustamisen, mikä mahdollistaa kliinisesti annotoidut translaatiotutkimusmallit.

HROC222 T1 M2:n luominen tapahtui standardoidun menettelyn mukaisesti, johon kuului tuoreen resektoidun kasvainkudoksen mekaaninen hajottaminen, yksisoluisten suspensioiden valmistaminen ja siemenviljely kollageenipinnoitetuille viljelylevyille määritellyssä kasvainsoluviljelyalustassa, johon oli lisätty glutamiinia, antibiootteja ja antimykotiineja. HROC-kohortissa pysyvät primaariset kolorektaalisyövän solulinjat onnistuttiin luomaan noin 13 %:sta yritetyistä näytteistä. Tilastollinen analyysi osoitti, että korkeampi kasvaimen luokitus oli merkitsevästi yhteydessä primaarisen solulinjan onnistuneeseen luomiseen, kun taas edistynyt imusolmuketila osoitti positiivista trendiä. Kokoelman monimuuttuja-analysissä imusolmukkeiden leviäminen nousi esiin itsenäisenä ennustajana mallin luomisen onnistumiselle.

HROC-kokoelma kattaa kaikki kolorektaalisyövän tärkeimmät molekyylytyypit, mukaan lukien kromosomien epävakaas (CIN), CpG-saarekkeen metylaattorifenotyyppi (CIMP), mikrosatelliittivakaa (MSS) ja mikrosatelliittien epävakaas (MSI-H) -kasvaimet sekä erilaiset mutaatiot, jotka vaikuttavat keskeisiin ajurigeeneihin, kuten KRAS, BRAF, TP53, APC ja PIK3CA. HROC222 T1 M2 on luotu tämän tarkasti karakterisoidun kehysten puitteissa, mikä mahdollistaa integroinnin yksityiskohtaisten kliinispatologisten ja molekyyli-tietojen sekä, saatavilla olevien, vastaavien PDX-materiaalien kanssa. HROC222 T1 M2 on potilaista peräisin oleva, vähän siirretty kolorektaalisyövän malli, joka soveltuu kasvaimen biologian, genotyypin ja fenotyypin välisten suhteiden sekä prekliinisten terapeuttisten testien tutkimiseen täsmäonkologian tutkimuksessa.

Organism Ihminen

Tissue Poikittainen paksusuoli

Disease Adenokarsinooma

Ominaisuudet

Age 79 vuotta

Gender Mies

Ethnicity Kaukasialainen

Growth properties Tarttuva

HROC222 T1 M2-solut | 300859

Säätelytiedot

Citation	HROC222 T1 M2 (Cytionin luettelonumero 300859)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_VQ93

Biomolekyyli tiedot

Käsittely

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glukoosia, w: 2,5 mM L-glutamiinia, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natriumpyruvaattia, w: 1,2 g/L NaHCO ₃ (Cytionin artikkelinumero 820400a)
Supplements	Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.
Fluid renewal	3-5 päivän välein
Freeze medium	Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

HROC222 T1 M2-solut | 300859

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Optimaalisen kiinnittymisen ja elinkelpoisuuden saavuttamiseksi sulatuksen jälkeen suosittelemme **kollageenipinnoitettujen pullojen tai levyjen** käyttöä.

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

HROC222 T1 M2-solut | 300859

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäissä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Storage Conditions

Pitkäaikaisäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.