

HROC300 T2 M1-kennot | 300866

Yleisiä tietoja

Description

HROC300 T2 M1 on ihmisen kolorektaalisyöpäsoluminija, joka on peräisin HROC (Hansestadt Rostock Colorectal Cancer) -mallikokoelman aikuispotilaalta resektoidusta primaarikasvaimen näytteestä. Merkintä "T2" tarkoittaa, että kasvain on saatu toisella leikkauskerralla, kun taas "M1" tarkoittaa vastaavaa in vitro -mallia, joka on perustettu tästä näytteestä. HROC-alusta yhdistää kattavan biopankin standardoituun potilaista peräisin olevien ksenotransplantaattien (PDX) ja pysyvien matalan passageluvun solulinjojen tuottamiseen, mikä mahdollistaa molekyyllitasolla merkittyjen kasvainmallien luomisen peräkkäisistä kolorektaalista syöpätapauksista.

HROC300 T2 M1:n perustaminen tapahtui standardoidun protokollan mukaisesti, joka sisälsi vastaleikatun kasvainkudoksen mekaanisen hajottamisen, suodattamisen yksisoluisien suspensioiden saamiseksi ja siementämisen kollageenipinnoitetuille viljelylevyille määritellyssä kasvainsoluviljelyalustassa, johon oli lisätty glutamiinia, antibiootteja ja antimykotiineja. HROC-kohortissa pysyviä primaarisoluja tuotettiin noin 13 prosentista kolorektaalisyövän näytteistä, ja onnistunut perustaminen korreloi yksimuuttuja-analysissä korkeamman kasvaimen luokituksen ja edistyneen imusolmuketilan kanssa. Monimuuttuja-analysissä imusolmukkeiden osallistuminen tunnistettiin itsenäiseksi ennustajaksi onnistuneelle in vitro -mallin perustamiselle. Nämä havainnot heijastavat biologisesti aggressiivisten fenotyyppien rikastumista onnistuneesti sopeutuneissa viljelmissä.

Laajemmassa HROC-kokoelmassa mallit kattavat kaikki kolorektaalisyövän tärkeimmät molekyylylityypit, mukaan lukien kromosomien epävakaas (CIN), CpG-saarekkeen metylointifenotyyppi (CIMP), mikrosatelliittivakaa (MSS) ja mikrosatelliittien epävakaas (MSI-H) -kasvaimet sekä erilaiset mutaatiot, jotka vaikuttavat geeneihin, kuten KRAS, BRAF, TP53, APC ja PIK3CA. HROC300 T2 M1 on luotu tässä tarkasti annotoidussa kontekstissa, mikä mahdollistaa integroinnin vastaaviin kliinispatologisiin tietoihin ja, jos saatavilla, vastaavaan PDX-materiaaliin. HROC300 T2 M1 on potilaasta peräisin oleva kolorektaalisyövän malli, jolla on vähän siirtoja, ja se sopii hyvin tuumoribiologian, genotyypin ja fenotyypin välisten yhteyksien sekä prekliinisten terapeuttisten testien tutkimiseen tarkkuusonkologian puitteissa.

Organism Ihminen

Tissue Kolorektaali

Disease Adenokarsinooma, TNM-vaihe T4aN1bM1R2L0V1, luokitus G2, Lk(n) + 3, Σ Lk(n) 22

Ominaisuudet

Age 73 vuotta

Gender Mies

Ethnicity Kaukasialainen

Growth properties Tarttuva

HROC300 T2 M1-kennot | 300866

Säätelytiedot

Citation	HROC300 T2 M1 (Cytionin luettelonumero 300866)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_VQ94

Biomolekyylitiedot

MSI-status	MSS
-------------------	-----

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.

HROC300 T2 M1-kennot | 300866

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.

HROC300 T2 M1-kennot | 300866

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.