

HROC300 T2 M1 Cellules | 300866

Informations générales

Description

HROC300 T2 M1 est une lignée cellulaire humaine de carcinome colorectal dérivée d'un échantillon de tumeur primaire prélevé sur un patient adulte dans le cadre de la collection de modèles HROC (Hansestadt Rostock Colorectal Cancer). La désignation « T2 » indique que la tumeur a été obtenue lors d'une deuxième intervention chirurgicale, tandis que « M1 » désigne le modèle in vitro correspondant établi à partir de cet échantillon. La plateforme HROC intègre une biobanque complète avec la génération standardisée de xénogreffes dérivées de patients (PDX) et de lignées cellulaires permanentes à faible passage, permettant ainsi d'obtenir des modèles tumoraux annotés au niveau moléculaire à partir de cas consécutifs de cancer colorectal.

La mise en place du HROC300 T2 M1 a suivi un protocole standardisé impliquant la dissociation mécanique de tissus tumoraux fraîchement résectionnés, la filtration pour obtenir des suspensions de cellules uniques et l'ensemencement sur des plaques de culture recouvertes de collagène dans un milieu de culture cellulaire tumoral défini, complété par de la glutamine, des antibiotiques et des antimycotiques. Dans la cohorte HROC, des lignées cellulaires primaires permanentes ont été générées à partir d'environ 13 % des échantillons de carcinome colorectal testés, leur établissement réussi étant corrélé, dans l'analyse univariée, à un grade tumoral plus élevé et à un statut ganglionnaire avancé. L'analyse multivariée a identifié l'atteinte ganglionnaire comme un facteur prédictif indépendant de la réussite de l'établissement du modèle in vitro. Ces résultats reflètent l'enrichissement des phénotypes biologiquement agressifs parmi les cultures adaptées avec succès.

Au sein de la collection HROC plus large, les modèles englobent tous les principaux sous-types moléculaires de carcinome colorectal, y compris les tumeurs à instabilité chromosomique (CIN), à phénotype méthylateur des îlots CpG (CIMP), à microsatellites stables (MSS) et à instabilité microsatellitaire élevée (MSI-H), ainsi que divers contextes mutationnels affectant des gènes tels que KRAS, BRAF, TP53, APC et PIK3CA. Le HROC300 T2 M1 a été généré dans ce contexte rigoureusement annoté, ce qui permet son intégration avec des données clinico-pathologiques correspondantes et, lorsqu'elles sont disponibles, avec le matériel PDX correspondant. En tant que modèle de carcinome colorectal à faible passage dérivé de patients, le HROC300 T2 M1 est adapté aux études sur la biologie tumorale, les associations génotype-phénotype et les tests thérapeutiques précliniques dans un cadre d'oncologie de précision.

Organism

Humain

Tissue

Colorectal

Disease

Adénocarcinome, stade TNM T4aN1bM1R2L0V1, grade G2, Lk(n) + 3, Σ Lk(n) 22

Caractéristiques

Age

73 ans

Gender

Homme

Ethnicity

Caucasien

HROC300 T2 M1 Cellules | 300866

Growth properties Adhérent

Données réglementaires

Citation HROC300 T2 M1 (numéro de catalogue Cytion 300866)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_VQ94

Depositor M. Linnebacher

Données biomoléculaires

MSI-status MSS

Manipulation

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w : 3.1 g/L Glucose, w : 2.5 mM L-Glutamine, w : 15 mM HEPES, w : 0.5 mM Sodium pyruvate, w : 1.2 g/L NaHCO₃ (numéro d'article Cytion 820400a)

Supplements Compléter le milieu avec 10% de FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Retirer l'ancien milieu des cellules adhérentes et les laver avec du PBS dépourvu de calcium et de magnésium. Pour les flacons T25, utiliser 3-5 ml de PBS, et pour les flacons T75, 5-10 ml. Ensuite, recouvrir complètement les cellules avec Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laisser les cellules incuber à température ambiante pendant 8-10 minutes pour les détacher. Après incubation, mélanger délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifuger à 300xg pendant 3 minutes. Jeter le surnageant, remettre les cellules en suspension dans du milieu frais et les transférer dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.

Fluid renewal Tous les 3 à 5 jours

HROC300 T2 M1 Cellules | 300866

Freeze medium

Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (comprenant du FBS) + 10 % de DMSO pour une viabilité adéquate après décongélation, ou CM-1 (numéro de catalogue 800100 de Cytion), qui comprend des osmoprotectants et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryogénéisation.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.
4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules et jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre doucement en suspension le culot cellulaire dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension entre deux flacons de culture T25 ; pour les cultures en suspension, transférer tout le milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance efficaces des cellules.
8. Respecter les protocoles de sous-culture établis pour une croissance et un entretien continus de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosphère humidifiée.

Flask Coating

Pour une fixation et une viabilité optimales après décongélation, nous recommandons d'utiliser des **flacons ou des plaques recouverts de collagène**.

HROC300 T2 M1 Cellules | 300866

Freezing Procedure

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle de qualité / Profil génétique / HLA

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes basées sur la luminescence.

Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.

Profil STR

CSF1PO: 10,12
D13S317: 8,10
D16S539: 12
D5S818: 13.1
D7S820: 10,11
TH01: 8,9.3
TPOX: 8,8.3
vWA: 17.1