

HROC300 T2 M1 cellák | 300866

Általános információk

Description

A HROC300 T2 M1 egy humán kolorektális karcinóma sejtvonal, amely a HROC (Hansestadt Rostock Colorectal Cancer) modellgyűjteményben szereplő, felnőtt betegtől eltávolított primer tumor mintából származik. A „T2” jelölés azt jelzi, hogy a tumort egy második műtéti időpontban nyerték, míg az „M1” jelölés a mintából létrehozott megfelelő in vitro modellt jelöli. A HROC platform integrálja a átfogó biobankolást a betegektől származó xenotranszplantátumok (PDX) és állandó, alacsony passzálású sejtvonalak szabványosított előállításával, lehetővé téve molekulárisan annotált tumor modellek létrehozását egymást követő kolorektális rákos esetekből.

A HROC300 T2 M1 létrehozása egy szabványosított protokollt követett, amely magában foglalta a frissen eltávolított tumor szövet mechanikus disszociációját, szűrést az egysejtű szuszpenziók előállításához, valamint a kollagénnel bevont tenyésztőlapon való vetést glutaminnal, antibiotikumokkal és antimikotikumokkal kiegészített, meghatározott tumorsejt-tenyésztő tápközegben. A HROC kohortban az állandó elsődleges sejtvonalakat a kolorektális karcinóma minták körülbelül 13%-ából állították elő, és az egyváltozós elemzésben a sikeres létrehozás korrelált a magasabb tumorosztályozással és a fejlett nyirokcsomó-státusszal. A többváltozós elemzés a nyirokcsomó-bevonást azonosította a sikeres in vitro modell létrehozásának független előrejelzőjeként. Ezek az eredmények a sikeresen adaptált kultúrák között a biológiailag agresszív fenotípusok gazdagodását tükrözik.

A szélesebb HROC-gyűjteményen belül a modellek a kolorektális karcinóma összes főbb molekuláris altípusát lefedik, beleértve a kromoszómális instabilitást (CIN), a CpG-sziget metiláló fenotípust (CIMP), a mikroszatellit-stabil (MSS) és a mikroszatellit-instabilitás-magas (MSI-H) tumorokat, valamint a KRAS, BRAF, TP53, APC és PIK3CA géneket. A HROC300 T2 M1-et ebben a szigorúan annotált kontextusban hozták létre, lehetővé téve az illeszkedő klinikai-patológiai adatokkal és, amennyiben rendelkezésre áll, a megfelelő PDX anyaggal való integrációt. Alacsony passzálású, betegtől származó kolorektális karcinóma modellként a HROC300 T2 M1 alkalmas tumorbiológiai, genotípus-fenotípus összefüggések és preklinikai terápiás vizsgálatok tanulmányozására a precíziós onkológia keretein belül.

Organism

Emberi

Tissue

Colorectalis

Disease

Adenokarcinóma, TNM stádium T4aN1bM1R2L0V1, osztályozás G2, Lk(n) + 3, Σ Lk(n) 22

Jellemzők

Age

73 év

Gender

Férfi

Ethnicity

Kaukázusi

Growth properties

Adherent

HROC300 T2 M1 cellák | 300866**Szabályozási adatok**

Citation	HROC300 T2 M1 (Cytion katalógusszám: 300866)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_VQ94

Biomolekuláris adatok

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

A kezelése

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glükóz, w: 2,5 mM L-Glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM nátrium-piruvát, w: 1,2 g/L NaHCO ₃ (Cytion 820400a cikkszám)
Supplements	A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadéokban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.
Fluid renewal	3-5 naponta
Freeze medium	Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krioindukált stressz csökkentése érdekében.

HROC300 T2 M1 cellák | 300866

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150 °C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37 °C -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a krioüklét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere

37 °C , 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

A felolvasztás utáni optimális kötődés és életképesség érdekében **kollagénnel bevont lombikok vagy lemezek** használatát javasoljuk.

Freezing Procedure

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

HROC300 T2 M1 cellák | 300866

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 °C és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C -on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejtkultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.