

HROC300 T2 M1 Celle | 300866

Informazioni generali

Description

HROC300 T2 M1 è una linea cellulare di carcinoma coloretale umano derivata da un campione di tumore primario asportato da un paziente adulto all'interno della collezione di modelli HROC (Hansestadt Rostock Colorectal Cancer). La designazione "T2" indica che il tumore è stato ottenuto in un secondo momento chirurgico, mentre "M1" indica il corrispondente modello in vitro stabilito da questo campione. La piattaforma HROC integra una biobanca completa con la generazione standardizzata di xenotrapianti derivati da pazienti (PDX) e linee cellulari permanenti a basso passaggio, consentendo modelli tumorali annotati a livello molecolare da casi consecutivi di cancro coloretale.

La creazione di HROC300 T2 M1 ha seguito un protocollo standardizzato che prevedeva la dissociazione meccanica del tessuto tumorale appena asportato, la filtrazione per ottenere sospensioni di cellule singole e la semina su piastre di coltura rivestite di collagene in un terreno di coltura cellulare tumorale definito, integrato con glutammina, antibiotici e antimicotici. Nell'ambito della coorte HROC, sono state generate linee cellulari primarie permanenti da circa il 13% dei campioni di carcinoma coloretale analizzati, con un successo correlato, nell'analisi univariata, a un grado tumorale più elevato e a uno stato linfonodale avanzato. L'analisi multivariata ha identificato il coinvolgimento linfonodale come predittore indipendente del successo nella creazione di modelli in vitro. Questi risultati riflettono l'arricchimento di fenotipi biologicamente aggressivi tra le colture adattate con successo.

All'interno della più ampia collezione HROC, i modelli comprendono tutti i principali sottotipi molecolari di carcinoma coloretale, compresi i tumori con instabilità cromosomica (CIN), fenotipo metilatore dell'isola CpG (CIMP), microsatellite stabile (MSS) e microsatellite altamente instabile (MSI-H), nonché diversi background mutazionali che influenzano geni come KRAS, BRAF, TP53, APC e PIK3CA. HROC300 T2 M1 è stato generato in questo contesto rigorosamente annotato, consentendo l'integrazione con dati clinico-patologici corrispondenti e, ove disponibili, con il materiale PDX corrispondente. Essendo un modello di carcinoma coloretale a basso passaggio derivato da pazienti, HROC300 T2 M1 è adatto per studi di biologia tumorale, associazioni genotipo-fenotipo e test terapeutici preclinici nell'ambito di un quadro di oncologia di precisione.

Organism Umano

Tissue Coloretale

Disease Adenocarcinoma, stadio TNM T4aN1bM1R2L0V1, grading G2, Lk(n) + 3, Σ Lk(n) 22

Caratteristiche

Age 73 anni

Gender Uomo

Ethnicity Caucasico

Growth properties Aderente

HROC300 T2 M1 Celle | 300866**Dati normativi**

Citation	HROC300 T2 M1 (numero di catalogo Cytion 300866)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_VQ94
Depositor	M. Linnebacher

Dati biomolecolari

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

Manipolazione

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L di glucosio, w: 2,5 mM di L-Glutammina, w: 15 mM di HEPES, w: 0,5 mM di Sodio piruvato, w: 1,2 g/L di NaHCO ₃ (articolo Cytion numero 820400a)
Supplements	Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.
Fluid renewal	Ogni 3-5 giorni
Freeze medium	Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelo, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

HROC300 T2 M1 Celle | 300866

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%_{CO2}, atmosfera umidificata.

Flask Coating

Per un attaccamento e una vitalità ottimali dopo lo scongelamento, si consiglia di utilizzare **fiasche o piastre rivestite di collagene**.

Freezing Procedure

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

HROC300 T2 M1 Celle | 300866

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo di qualità / Profilo genetico / HLA

Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.

Profilo 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