

HROC222 T1 M2 ląstelės | 300859

Bendra informacija

Description

HROC222 T1 M2 yra žmogaus kolorektalinės adenokarcinomos ląstelių linija, sukurta HROC (Hansestadt Rostock Colorectal Cancer) modelių kolekcijoje iš suaugusio paciento pašalinto pirminio naviko. Pavadinimas „T1“ reiškia, kad mėginys buvo paimtas pirmojo chirurginio gydymo metu, o „M2“ reiškia atitinkamą in vitro modelį, sukurtą iš šio naviko. HROC platforma integruoja išsamią biologinių duomenų banką, standartizuotą molekulinę anotaciją ir lygiagretų pacientų kilmės ksenotransplantatų (PDX) bei nuolatinį mažo praėjimo ląstelių linijų sukūrimą, leidžiantį kurti klinikinėmis anotacijomis pagrįstus transliacinius tyrimų modelius.

HROC222 T1 M2 sukūrimas vyko pagal standartizuotas procedūras, apimančias šviežiai pašalinto naviko audinio mechaninį skilimą, vienaląsčių suspensijų paruošimą ir sėją ant kolagenu padengtų kultūros plokščių, esančių apibrėžtoje naviko ląstelių kultūros terpėje, papildytoje glutaminu, antibiotikais ir antimikotikais. HROC kohorte nuolatinės pirminės kolorektalinio vėžio ląstelių linijos buvo sėkmingai sukurtos iš maždaug 13 % bandytų mėginių. Statistinė analizė parodė, kad aukštesnis naviko laipsnis yra reikšmingai susijęs su sėkmingu pirminių ląstelių linijų sukūrimu, o pažengęs limfmazgių būklė parodė teigiamą tendenciją. Atlikus daugiamatę visos kolekcijos analizę, limfmazgių pažeidimas pasirodė esąs nepriklausomas modelio sukūrimo sėkmės prognozės rodiklis.

HROC kolekcija apima visus pagrindinius kolorektalinio karcinomo molekulinės tipus, įskaitant chromosomų nestabilumą (CIN), CpG salos metilatoriaus fenotipą (CIMP), mikrosatelitų stabilumą (MSS) ir mikrosatelitų nestabilumą (MSI-H), taip pat įvairius mutacijų fonus, turinčius įtakos pagrindiniams genams, tokiems kaip KRAS, BRAF, TP53, APC ir PIK3CA. HROC222 T1 M2 buvo sukurtas pagal šį griežtai apibrėžtą modelį, leidžiantį integruoti išsamius klinikopatologinius ir molekulinis duomenis bei, jei įmanoma, atitinkamą PDX medžiagą. Kaip mažo praėjimo, iš paciento gautas kolorektalinės karcinomos modelis, HROC222 T1 M2 tinka naviko biologijos, genotipo ir fenotipo santykių tyrimams bei ikiklinikiams terapiniams bandymams tiksliosios onkologijos tyrimuose.

Organism Žmogus

Tissue Skersinė storoji žarna

Disease Adenokarcinoma

Charakteristikos

Age 79 metai

Gender Vyras

Ethnicity Kaukazių

Growth properties Prigludęs

HROC222 T1 M2 ląstelės | 300859

Reguliavimo duomenys

Citation	HROC222 T1 M2 (Cytion katalogo numeris 300859)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_VQ93

Biomolekuliniai duomenys

Tvarkymas

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l gliukozės, w: 2,5 mM L-glutamino, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natrio piruvato, w: 1,2 g/l NaHCO ₃ (Cytion gaminio numeris 820400a)
Supplements	Papildykite terpę 10 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.
Fluid renewal	Kas 3-5 dienas
Freeze medium	Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

HROC222 T1 M2 ląstelės | 300859

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Nėra

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

HROC222 T1 M2 ląstelės | 300859

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystą azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.