

HROC300 T2 M1 ląstelės | 300866

Bendra informacija

Description

HROC300 T2 M1 yra žmogaus storosios žarnos karcinomos ląstelių linija, gauta iš pirminio naviko mėginio, pašalinto iš suaugusio paciento pagal HROC (Hansestadt Rostock Colorectal Cancer) modelių kolekciją. Pavadinimas „T2“ reiškia, kad navikas buvo paimtas antrojo chirurginio etapo metu, o „M1“ reiškia atitinkamą in vitro modelį, sukurtą iš šio mėginio. HROC platforma integruoja išsamią biologinių bankų veiklą su standartizuotu pacientų kilmės ksenotransplantatų (PDX) ir nuolatinių mažo praėjimo ląstelių linijų kūrimu, leidžiant kurti molekuliškai anotuotus navikų modelius iš nuoseklių kolorektalinio vėžio atvejų.

HROC300 T2 M1 sukūrimas vyko pagal standartizuotą protokolą, apimantį šviežiai pašalinto naviko audinio mechaninį skilimą, filtravimą, siekiant gauti vienąląsčių suspensijas, ir sėjimą ant kolagenu padengtų kultūros plokščių, esančių apibrėžtoje naviko ląstelių kultūros terpėje, papildytoje glutaminu, antibiotikais ir antimikotikais. HROC kohorteje nuolatinės pirminės ląstelių linijos buvo sukurtos iš maždaug 13 % bandytų kolorektalinio karcinomo mėginių, o sėkmingas sukūrimas vienmatėje analizėje koreliavo su aukštesniu naviko laipsniu ir pažengusia limfmazgių būkle. Daugiamačioje analizėje limfmazgių pažeidimas buvo nustatytas kaip nepriklausomas sėkmingo in vitro modelio sukūrimo prognozės rodiklis. Šie rezultatai atspindi biologiniu požiūriu agresyvių fenotipų gausą tarp sėkmingai pritaiktų kultūrų.

Platesnėje HROC kolekcijoje modeliai apima visus pagrindinius kolorektalinės karcinomos molekulinės subtipus, įskaitant chromosomų nestabilumą (CIN), CpG salos metilatoriaus fenotipą (CIMP), mikrosatelitų stabilumą (MSS) ir mikrosatelitų nestabilumą (MSI-H), taip pat įvairius mutacijų fonus, veikiančius tokius genus kaip KRAS, BRAF, TP53, APC ir PIK3CA. HROC300 T2 M1 buvo sukurtas šiame griežtai anotuotame kontekste, leidžiant integruoti atitinkamus klinikopatologinius duomenis ir, jei įmanoma, atitinkamą PDX medžiagą. Kaip mažo praėjimo, iš paciento gautas kolorektalinės karcinomos modelis, HROC300 T2 M1 tinka naviko biologijos, genotipo ir fenotipo sąsajų tyrimams bei ikiklinikiniams terapiniams bandymams tiksliosios onkologijos sistemoje.

Organism Žmogus

Tissue Storosios žarnos

Disease Adenokarcinoma, TNM stadija T4aN1bM1R2L0V1, gradingas G2, Lk(n) + 3, Σ Lk(n) 22

Charakteristikos

Age 73 metai

Gender Vyras

Ethnicity Kaukaziečių

Growth properties Prigludęs

HROC300 T2 M1 ląstelės | 300866

Reguliavimo duomenys

Citation	HROC300 T2 M1 (Cytion katalogo numeris 300866)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_VQ94

Biomolekuliniai duomenys

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

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 perkeltkite 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.

HROC300 T2 M1 ląstelės | 300866

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°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°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 perkelkite 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°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Kad po atšildymo būtų užtikrintas optimalus prisitvirtinimas ir gyvybingumas, rekomenduojame naudoti **kolagenu dengtas kolbas arba plokšteles**.

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

HROC300 T2 M1 ląstelės | 300866

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 perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug $-150\text{--}196\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūroje. Laikymas $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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.