

HROC222 T1 M2 šūnas | 300859

Vispārīga informācija

Description

HROC222 T1 M2 ir cilvēka kolorektālā adenokarcinoma šūnu līnija, kas izveidota HROC (Hansestadt Rostock Colorectal Cancer) modeļu kolekcijā no primārā audzēja, kas izgriezts pieaugušam pacientam. Apzīmējums „T1” norāda, ka paraugs tika iegūts pirmajā operācijas brīdī, bet „M2” apzīmē atbilstošo in vitro modeli, kas izveidots no šī audzēja. HROC platforma integrē visaptverošu biobanku, standartizētu molekulāro anotāciju un paralēlu pacientu izcelsmes ksenotransplantātu (PDX) un pastāvīgu zemu pasāžu šūnu līniju izveidi, nodrošinot klīniski anotētus translacionālos pētījumu modeļus.

HROC222 T1 M2 izveide notika saskaņā ar standartizētām procedūrām, kas ietvēra svaigi izgriezta audzēja audu mehānisku disociāciju, viensūnu suspensiju sagatavošanu un sēšanu uz kolagēna pārklātām kultūras platēm noteiktā audzēja šūnu kultūras vidē, kas papildināta ar glutamīnu, antibiotikām un antimikotiskām vielām. Visā HROC kohortā pastāvīgas primārās kolorektālā vēža šūnu līnijas tika veiksmīgi izveidotas no aptuveni 13 % mēģināto paraugu. Statistiskā analīze identificēja augstāku audzēja pakāpi kā būtiski saistītu ar veiksmīgu primāro šūnu līniju izveidi, savukārt progresējošs limfmezglu stāvoklis parādīja pozitīvu tendenci. Daudzfaktoru analīzē visā kolekcijā limfmezglu iesaistīšanās izrādījās neatkarīgs modelis izveides panākumu prognozētājs.

HROC kolekcija ietver visus galvenos kolorektālā karcinoma molekulāros apakštipus, tostarp hromosomu nestabilitāti (CIN), CpG salu metilatoru fenotipu (CIMP), mikrosatelītu stabilitāti (MSS) un mikrosatelītu nestabilitāti (MSI-H), kā arī dažādus mutāciju fonus, kas ietekmē galvenos virzītājspēkus, piemēram, KRAS, BRAF, TP53, APC un PIK3CA. HROC222 T1 M2 tika izveidots šajā stingri raksturotajā sistēmā, kas ļauj integrēt detalizētus klīnikopatoloģiskos un molekulāros datus un, ja pieejams, atbilstošo PDX materiālu. Kā zema pasāža, no pacientiem iegūts kolorektālā karcinoma modelis, HROC222 T1 M2 ir piemērots audzēja bioloģijas, genotipa un fenotipa attiecību izpētei un pirmsklīniskai terapeitiskai testēšanai precīzās onkoloģijas pētījumos.

Organism Cilvēks

Tissue Šķērsvirziena resnās zarnas

Disease Adenokarcinoma

Raksturojums

Age 79 gadi

Gender Vīrieši

Ethnicity Kaukāzietis

Growth properties Adherent

Normatīvie dati

HROC222 T1 M2 šūnas | 300859**Citation** HROC222 T1 M2 (Cytion kataloga numurs 300859)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_VQ93**Biomolekulārie dati****Darbs ar****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glikozes, w: 2,5 mM L-glutamīna, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM nātrija piruvāta, w: 1,2 g/l NaHCO₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820400a)**Supplements** Papildināt barotni ar 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.**Fluid renewal** Ik pēc 3 līdz 5 dienām**Freeze medium** Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

HROC222 T1 M2 šūnas | 300859

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150°C , lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar $300 \times g$ 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Neviens

Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78°C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

HROC222 T1 M2 šūnas | 300859

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.