

HROC300 T2 M1 šūnas | 300866

Vispārīga informācija

Description

HROC300 T2 M1 ir cilvēka kolorektālā karcinoma šūnu līnija, kas iegūta no primārā audzēja parauga, kas izgriezts pieaugušam pacientam HROC (Hansestadt Rostock Colorectal Cancer) modeļu kolekcijā. Apzīmējums „T2” norāda, ka audzējs tika iegūts otrajā operācijas brīdī, bet „M1” apzīmē atbilstošo in vitro modeli, kas izveidots no šī parauga. HROC platforma integrē visaptverošu biobanku ar standartizētu pacientu izcelsmes ksenotransplantātu (PDX) un pastāvīgu zemu pasāžu šūnu līniju radīšanu, ļaujot izveidot molekulāri anotētus audzēju modeļus no secīgiem kolorektālā vēža gadījumiem.

HROC300 T2 M1 izveide notika saskaņā ar standartizētu protokolu, kas ietvēra svaigi izgriezta audzēja audu mehānisku disociāciju, filtrēšanu, lai iegūtu viensūnu suspensijas, un sēšanu uz kolagēna pārklātām kultūras platēm noteiktā audzēja šūnu kultūras vidē, kas papildināta ar glutamīnu, antibiotikām un antimikotiskām vielām. HROC kohortā pastāvīgas primārās šūnu līnijas tika iegūtas no aptuveni 13 % mēģināto kolorektālā karcinoma paraugu, un veiksmīga izveide vienfaktoru analizē korelēja ar augstāku audzēja pakāpi un progresējušu limfmezglu statusu. Daudzfaktoru analīze identificēja limfmezglu iesaistīšanos kā neatkarīgu in vitro modeļa veiksmīgas izveides prognozes rādītāju. Šie rezultāti atspoguļo bioloģiski agresīvu fenotipu bagātināšanos veiksmīgi adaptētajās kultūrās.

Plašākajā HROC kolekcijā modeļi aptver visus galvenos kolorektālās karcinomas molekulāros apakštīpus, tostarp hromosomu nestabilitāti (CIN), CpG salu metilatoru fenotipu (CIMP), mikrosatelītu stabilitāti (MSS) un mikrosatelītu nestabilitāti (MSI-H), kā arī dažādus mutāciju fonus, kas ietekmē tādas gēnas kā KRAS, BRAF, TP53, APC un PIK3CA. HROC300 T2 M1 tika izveidots šajā stingri anotētajā kontekstā, ļaujot integrēt atbilstošos klīnikopatoloģiskos datus un, ja pieejams, atbilstošo PDX materiālu. Kā zema pasāža, no pacientiem iegūts kolorektālā karcinoma modelis, HROC300 T2 M1 ir piemērots audzēju bioloģijas, genotipa-fenotipa saistību un pirmsklīnisko terapeitisko testu pētījumiem precīzās onkoloģijas ietvaros.

Organism Cilvēks

Tissue Kolorektālais

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

Raksturojums

Age 73 gadi

Gender Vīrieši

Ethnicity Kaukāzietis

Growth properties Adherent

Normatīvie dati

HROC300 T2 M1 šūnas | 300866**Citation** HROC300 T2 M1 (Cytion kataloga numurs 300866)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_VQ94**Biomolekulārie dati****MSI-status** MSS**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 atveseļošanas un samazinātu krioinducēto stresu.

HROC300 T2 M1 šūnas | 300866

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 x 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

Optimālai piestiprināšanai un dzīvotspējai pēc atkausēšanas ieteicams izmantot **ar kolagēnu pārklātas kolbas vai plates**.

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.

HROC300 T2 M1 šūnas | 300866

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