

HROC222 T1 M2 Cellen | 300859

Algemene informatie

Description

HROC222 T1 M2 is een menselijke colorectale adenocarcinoomcellijn die is opgezet binnen de HROC-modelcollectie (Hansestadt Rostock Colorectal Cancer) op basis van een primaire tumor die bij een volwassen patiënt is verwijderd. De aanduiding "T1" geeft aan dat het monster is verkregen tijdens de eerste operatie, terwijl "M2" verwijst naar het overeenkomstige in-vitromodel dat uit deze tumor is gegenereerd. Het HROC-platform integreert uitgebreide biobanking, gestandaardiseerde moleculaire annotatie en parallele oprichting van van patiënten afkomstige xenotransplantaten (PDX) en permanente cellijnen met een laag aantal passages, waardoor klinisch geannoteerde translationele onderzoeksmodellen mogelijk worden.

De generatie van HROC222 T1 M2 volgde gestandaardiseerde procedures, waaronder mechanische dissociatie van vers verwijderd tumorweefsel, bereiding van suspensies van afzonderlijke cellen en zaaien op met collageen gecoatde kweekplaten in een gedefinieerd tumorcelkweekmedium aangevuld met glutamine, antibiotica en antimycotica. In het HROC-cohort werden met succes permanente primaire colorectale kankercellijnen opgezet uit ongeveer 13% van de geprobeerde monsters. Statistische analyse wees uit dat een hogere tumorgraad significant geassocieerd was met het succesvol opzetten van primaire cellijnen, terwijl een gevorderde lymfeklierstatus een positieve trend vertoonde. In multivariate analyse van de hele collectie bleek lymfeklierbetrokkenheid een onafhankelijke voorspeller te zijn voor het succes van het opzetten van modellen.

De HROC-collectie omvat alle belangrijke moleculaire subtypen van colorectaal carcinoom, waaronder chromosomale instabiliteit (CIN), CpG-eilandmethylatorfenotype (CIMP), microsatellietstabiele (MSS) en microsatellietinstabiliteit-hoge (MSI-H) tumoren, evenals diverse mutatieachtergronden die van invloed zijn op belangrijke drivergenen zoals KRAS, BRAF, TP53, APC en PIK3CA. HROC222 T1 M2 is gegenereerd binnen dit rigoreus gekarakteriseerde kader, waardoor integratie met gedetailleerde klinisch-pathologische en moleculaire gegevens en, indien beschikbaar, overeenkomstig PDX-materiaal mogelijk is. Als een laag-passage, van patiënten afkomstig colorectaal carcinoommodel is HROC222 T1 M2 geschikt voor onderzoek naar tumorbiologie, genotype-fenotype relaties en preklinische therapeutische tests binnen precisie-oncologisch onderzoek.

Organism Mens

Tissue Dwarse dikke darm

Disease Adenocarcinoom

Kenmerken

Age 79 jaar

Gender Mannelijk

Ethnicity Kaukasisch

Growth properties Aanhangend

HROC222 T1 M2 Cellen | 300859

Regelgevende gegevens

Citation	HROC222 T1 M2 (Cytion catalogusnummer 300859)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_VQ93
Depositor	M. Linnebacher

Biomoleculaire gegevens

Omgaan met

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L Glucose, w: 2,5 mM L-Glutamine, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM Natriumpyruvaat, w: 1,2 g/L NaHCO ₃ (Cytion artikelnummer 820400a)
Supplements	Vul het medium aan met 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenden en vervolgens centrifugeren bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.
Fluid renewal	Om de 3 tot 5 dagen
Freeze medium	Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedium (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

HROC222 T1 M2 Cellen | 300859

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij $300 \times g$ om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Geen

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

HROC222 T1 M2 Cellen | 300859

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.