

HROC300 T2 M1 Cellen | 300866

Algemene informatie

Description

HROC300 T2 M1 is een menselijke colorectale carcinoomcellijn afkomstig van een primair tumormonster dat is verwijderd bij een volwassen patiënt binnen de HROC-modelcollectie (Hansestadt Rostock Colorectal Cancer). De aanduiding "T2" geeft aan dat de tumor tijdens een tweede chirurgische ingreep is verkregen, terwijl "M1" verwijst naar het overeenkomstige in-vitromodel dat op basis van dit monster is ontwikkeld. Het HROC-platform integreert uitgebreide biobanking met gestandaardiseerde generatie van van patiënten afkomstige xenotransplantaten (PDX) en permanente cellijnen met een laag aantal passages, waardoor moleculair geannoteerde tumormodellen van opeenvolgende gevallen van colorectale kanker mogelijk worden.

De oprichting van HROC300 T2 M1 volgde een gestandaardiseerd protocol met mechanische dissociatie van vers verwijderd tumorweefsel, filtratie om suspensies van afzonderlijke cellen te verkrijgen en zaaien op met collageen gecoate kweekplaten in een gedefinieerd tumorcelkweekmedium aangevuld met glutamine, antibiotica en antimycotica. In het HROC-cohort werden permanente primaire cellijnen gegenereerd uit ongeveer 13% van de geprobeerde colorectale carcinoommonsters, waarbij de succesvolle oprichting in univariate analyse correleerde met een hogere tumorgradatie en een gevorderde lymfeklierstatus. Multivariate analyse identificeerde lymfeklierbetrokkenheid als een onafhankelijke voorspeller van succesvolle in vitro modeloprichting. Deze bevindingen weerspiegelen de verrijking van biologisch agressieve fenotypes onder succesvol aangepaste culturen.

Binnen de bredere HROC-collectie omvatten de modellen alle belangrijke moleculaire subtypes van colorectaal carcinoom, waaronder chromosomale instabiliteit (CIN), CpG-eilandmethylatiefenotype (CIMP), microsatellietstabiele (MSS) en microsatellietinstabiliteit-hoge (MSI-H) tumoren, evenals diverse mutatieachtergronden die genen zoals KRAS, BRAF, TP53, APC en PIK3CA. HROC300 T2 M1 is gegenereerd in deze rigoureuze geannoteerde context, waardoor integratie met bijpassende klinisch-pathologische gegevens en, indien beschikbaar, overeenkomstig PDX-materiaal mogelijk is. Als een laag-passage, van patiënten afkomstig colorectaal carcinoommodel is HROC300 T2 M1 geschikt voor studies naar tumorbiologie, genotype-fenotype-associaties en preklinische therapeutische tests binnen een precisie-oncologisch kader.

Organism Mens

Tissue Colorectaal

Disease Adenocarcinoom, TNM-stadium T4aN1bM1R2L0V1, grading G2, Lk(n) + 3, Σ Lk(n) 22

Kenmerken

Age 73 jaar

Gender Mannelijk

Ethnicity Kaukasisch

Growth properties Aanhangend

HROC300 T2 M1 Cellen | 300866

Regelgevende gegevens

Citation	HROC300 T2 M1 (Cytion catalogusnummer 300866)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_VQ94
Depositor	M. Linnebacher

Biomoleculaire gegevens

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

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 groeimedum (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.

HROC300 T2 M1 Cellen | 300866

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.

HROC300 T2 M1 Cellen | 300866

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.

STR profiel

CSF1PO: 10,12
D13S317: 8,10
D16S539: 12
D5S818: 13.1
D7S820: 10,11
TH01: 8,9.3
TPOX: 8,8.3
vWA: 17.1