

HROC222 T1 M2-celler | 300859

Generell informasjon

Description

HROC222 T1 M2 er en human kolorektal adenokarsinomcellelinje etablert innenfor HROC-modellsamlingen (Hansestadt Rostock Colorectal Cancer) fra en primær tumor resekert fra en voksen pasient. Betegnelsen «T1» indikerer at prøven ble hentet ved første kirurgiske tidspunkt, mens «M2» angir den tilsvarende in vitro-modellen generert fra denne svulsten. HROC-plattformen integrerer omfattende biobanking, standardisert molekylær annotering og parallell etablering av pasientavlede xenotransplantater (PDX) og permanente cellelinjer med lav passasje, noe som muliggjør klinisk annoterte translasjonsforskningsmodeller.

Generering av HROC222 T1 M2 fulgte standardiserte prosedyrer som involverte mekanisk dissosiasjon av ferskt resekert tumorvev, preparering av enkeltcellesuspensjoner og såing på kollagenbelagte kulturplater i definert tumorcellekulturmedium tilsatt glutamin, antibiotika og antimykotika. I hele HROC-kohorten ble permanente primære kolorektal kreftcellelinjer vellykket etablert fra omtrent 13 % av de forsøkte prøvene. Statistisk analyse identifiserte høyere tumor gradering som signifikant assosiert med vellykket etablering av primære cellelinjer, mens avansert nodal status viste en positiv trend. I multivariat analyse på tvers av samlingen fremsto nodal involvering som en uavhengig prediktor for vellykket etablering av modellen.

HROC-samlingen omfatter alle viktige molekylære undertyper av kolorektal karsinom, inkludert kromosomalt ustabilitet (CIN), CpG-øy-metylatorfenotype (CIMP), mikrosatellittstabil (MSS) og mikrosatellittinstabilitet-høy (MSI-H) svulster, samt ulike mutasjonsbakgrunner som påvirker viktige drivergener som KRAS, BRAF, TP53, APC og PIK3CA. HROC222 T1 M2 ble generert innenfor dette strengt karakteriserte rammeverket, noe som muliggjør integrering med detaljerte klinisk-patologiske og molekylære data og, der det er tilgjengelig, tilsvarende PDX-materiale. Som en lavpassasje, pasientavlede kolorektal karsinommodell, er HROC222 T1 M2 egnet for undersøkelser av tumorbiologi, genotype-fenotype-forhold og preklinisk terapeutisk testing innen presisjonsonkologisk forskning.

Organism Menneskelig

Tissue Tverrgående tykktarm

Disease Adenokarsinom

Kjennetegn

Age 79 år

Gender Mann

Ethnicity Kaukasisk

Growth properties Vedhengende

Regulatoriske data

HROC222 T1 M2-celler | 300859

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

Biomolekylære data**Håndtering**

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glukose, w: 2,5 mM L-glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natriumpyruvat, w: 1,2 g/L NaHCO ₃ (Cytion artikkelnummer 820400a)
Supplements	Suppler mediet med 10 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspend cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.
Fluid renewal	Hver 3. til 5. dag
Freeze medium	Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoinduisert stress.

HROC222 T1 M2-celler | 300859

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelleten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

HROC222 T1 M2-celler | 300859

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.