

HROC300 T2 M1-celler | 300866

Generell informasjon

Description

HROC300 T2 M1 er en humant kolorektal karsinomcellelinje avledet fra en primær tumorprøve resekertert fra en voksen pasient i HROC-modellsamlingen (Hansestadt Rostock Colorectal Cancer). Betegnelsen «T2» indikerer at svulsten ble hentet ved et andre kirurgisk tidspunkt, mens «M1» angir den tilsvarende in vitro-modellen som ble etablert fra denne prøven. HROC-plattformen integrerer omfattende biobanking med standardisert generering av pasientavlede xenotransplantater (PDX) og permanente cellelinjer med lav passasje, noe som muliggjør molekylært annoterte svulstmodeller fra påfølgende kolorektale krefttilfeller.

Etableringen av HROC300 T2 M1 fulgte en standardisert protokoll som involverte mekanisk dissosiasjon av ferskt resekertert tumorvev, filtrering for å oppnå enkeltcellesuspensjoner og såing på kollagenbelagte kulturplater i definert tumorcellekulturmedium tilsatt glutamin, antibiotika og antimykotika. I hele HROC-kohorten ble permanente primære cellelinjer generert fra omtrent 13 % av forsøkte kolorektale karsinomprøver, med vellykket etablering som korrelerte i univariat analyse med høyere tumorvurdering og avansert nodalstatus. Multivariat analyse identifiserte nodal involvering som en uavhengig prediktor for vellykket etablering av in vitro-modeller. Disse funnene gjenspeiler berikelsen av biologisk aggressive fenotyper blant vellykkede tilpassede kulturer.

Innenfor den bredere HROC-samlingen omfatter modellene alle viktige molekylære subtyper av kolorektal karsinom, inkludert kromosomalt ustabilitet (CIN), CpG-øy-metylatorfenotype (CIMP), mikrosatellittstabil (MSS) og mikrosatellittinstabilitet-høy (MSI-H) svulster, samt ulike mutasjonsbakgrunner som påvirker gener som KRAS, BRAF, TP53, APC og PIK3CA. HROC300 T2 M1 ble generert i denne strengt annoterte konteksten, noe som muliggjør integrering med tilpassede klinisk-patologiske data og, der det er tilgjengelig, tilsvarende PDX-materiale. Som en lavpassasje, pasientavlede kolorektal karsinommodell, er HROC300 T2 M1 egnet for studier av tumorbiologi, genotype-fenotype-assosiasjoner og preklinisk terapeutisk testing innenfor et presisjonsonkologisk rammeverk.

Organism Menneskelig

Tissue Kolorektal

Disease Adenokarsinom, TNM-stadium T4aN1bM1R2L0V1, gradering G2, Lk(n) + 3, Σ Lk(n) 22

Kjennetegn

Age 73 år

Gender Mann

Ethnicity Kaukasisk

Growth properties Vedhengende

HROC300 T2 M1-celler | 300866**Regulatoriske data**

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

Biomolekylære data

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

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, resuspendere 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.

HROC300 T2 M1-celler | 300866

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 cellepelletten 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

For optimal feste og levedyktighet etter tining anbefaler vi å bruke **kollagenbelagte kolber eller plater**.

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.

HROC300 T2 M1-celler | 300866

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.

STR-profil

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