

**Komórki HROC222 T1 M2 | 300859****Informacje ogólne****Description**

HROC222 T1 M2 to ludzka linia komórkowa gruczolakoraka jelita grubego utworzona w ramach kolekcji modeli HROC (Hansestadt Rostock Colorectal Cancer) z pierwotnego guza usuniętego u dorosłego pacjenta. Oznaczenie „T1” wskazuje, że próbka została pobrana podczas pierwszej operacji, natomiast „M2” oznacza odpowiedni model in vitro wygenerowany z tego guza. Platforma HROC integruje kompleksowe biobankowanie, standaryzowane adnotacje molekularne oraz równoległe tworzenie przeszczepów pochodzących od pacjentów (PDX) i stałych linii komórkowych o niskiej liczbie pasażów, umożliwiając tworzenie modeli badań translacyjnych z adnotacjami klinicznymi.

Wytworzenie HROC222 T1 M2 odbyło się zgodnie ze znormalizowanymi procedurami obejmującymi mechaniczne rozdzielanie świeżo wyciętej tkanki nowotworowej, przygotowanie zawiesin pojedynczych komórek i wysiew na pokryte kolagenem płytki hodowlane w określonym podłożu hodowlanym komórek nowotworowych uzupełnionym glutaminą, antybiotykami i środkami przeciwgrzybiczymi. W całej kohorcie HROC udało się ustanowić stałe pierwotne linie komórkowe raka jelita grubego z około 13% próbek, które poddano badaniu. Analiza statystyczna wykazała, że wyższy stopień złośliwości guza był istotnie związany z pomyślnym ustanowieniem pierwotnej linii komórkowej, podczas gdy zaawansowany stan węzłów chłonnych wykazywał pozytywną tendencję. W analizie wielowymiarowej całej kolekcji zajęcie węzłów chłonnych okazało się niezależnym czynnikiem prognostycznym pomyślnego ustanowienia modelu.

Kolekcja HROC obejmuje wszystkie główne podtypy molekularne raka jelita grubego, w tym nowotwory z niestabilnością chromosomową (CIN), fenotyp metylacji wysp CpG (CIMP), stabilne mikrosatelitarne (MSS) i wysokie niestabilności mikrosatelitarne (MSI-H), a także różnorodne tło mutacyjne wpływające na kluczowe geny sterujące, takie jak KRAS, BRAF, TP53, APC i PIK3CA. Model HROC222 T1 M2 został wygenerowany w ramach tych rygorystycznie scharakteryzowanych ram, co pozwala na integrację ze szczegółowymi danymi kliniczno-patologicznymi i molekularnymi oraz, w miarę dostępności, z odpowiednim materiałem PDX. Jako model raka jelita grubego pochodzący od pacjenta o niskiej liczbie pasażów, HROC222 T1 M2 nadaje się do badań nad biologią nowotworów, relacjami między genotypem a fenotypem oraz przedklinicznych testów terapeutycznych w ramach badań nad precyzyjną onkologią.

**Organism** Człowiek**Tissue** Okrężnica poprzeczna**Disease** Gruczolakorak**Charakterystyka****Age** 79 lat**Gender** Mężczyzna**Ethnicity** Kaukaski

**Komórki HROC222 T1 M2 | 300859**

**Growth properties** Adherent

**Dane regulacyjne**

**Citation** HROC222 T1 M2 (numer katalogowy Cytion 300859)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_VQ93

**Depositor** M. Linnebacher

**Dane biomolekularne****Obsługa**

**Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glukozy, w: 2,5 mM L-glutaminy, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM pirogronianu sodu, w: 1,2 g/l NaHCO<sub>3</sub> (numer artykułu Cytion 820400a)

**Supplements** Uzuppełnić podłoże 10% FBS

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzucić supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.

**Fluid renewal** Co 3 do 5 dni

**Freeze medium** Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

## Komórki HROC222 T1 M2 | 300859

### Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej  $-150^{\circ}\text{C}$ , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze  $37^{\circ}\text{C}$  z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością  $300 \times g$  przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , nawilżona atmosfera.

### Flask Coating

W celu zapewnienia optymalnego przylegania i żywotności po rozmrożeniu zalecamy stosowanie **kolb lub płytek pokrytych kolagenem**.

### Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około  $-78^{\circ}\text{C}$  przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolkę do odpowiedniego miejsca przechowywania.

## Komórki HROC222 T1 M2 | 300859

### Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około  $-78^{\circ}\text{C}$  przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

### Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od  $-150$  do  $-196^{\circ}\text{C}$ . Przechowywanie w temperaturze  $-80^{\circ}\text{C}$  jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

## Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

### Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.