

Ogniwa HROC300 T2 M1 | 300866

Informacje ogólne

Description

HROC300 T2 M1 to ludzka linia komórkowa raka jelita grubego pochodząca z pierwotnej próbki guza pobranej od dorosłego pacjenta w ramach kolekcji modeli HROC (Hansestadt Rostock Colorectal Cancer). Oznaczenie „T2” wskazuje, że guz został pobrany podczas drugiej operacji, natomiast „M1” oznacza odpowiedni model in vitro utworzony na podstawie tej próbki. Platforma HROC łączy kompleksowe biobankowanie ze standardowym wytwarzaniem przeszczepów heterogenicznych pochodzących od pacjentów (PDX) i stałych linii komórkowych o niskiej liczbie pasażów, umożliwiając tworzenie modeli nowotworów z adnotacjami molekularnymi na podstawie kolejnych przypadków raka jelita grubego.

Utworzenie HROC300 T2 M1 nastąpiło zgodnie ze standardową procedurą obejmującą mechaniczne rozdzielanie świeżo wyciętej tkanki nowotworowej, filtrację w celu uzyskania zawiesiny pojedynczych komórek oraz wysiew na pokryte kolagenem płytki hodowlane w określonym podłożu hodowlanym komórek nowotworowych uzupełnionym glutaminą, antybiotykami i lekami przeciwgrzybiczymi. W całej kohorcie HROC stałe pierwotne linie komórkowe wygenerowano z około 13% próbek raka jelita grubego, przy czym pomyślne ustanowienie korelowało w analizie jednoczynnikowej z wyższym stopniem złośliwości guza i zaawansowanym stanem węzłów chłonnych. Analiza wieloczynnikowa wykazała, że zajęcie węzłów chłonnych jest niezależnym czynnikiem prognostycznym pomyślnego ustanowienia modelu in vitro. Wyniki te odzwierciedlają wzbogacenie biologicznie agresywnych fenotypów wśród pomyślnie przystosowanych kultur.

W ramach szerszej kolekcji HROC modele obejmują 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 geny, takie jak KRAS, BRAF, TP53, APC i PIK3CA. HROC300 T2 M1 został wygenerowany w tym rygorystycznie opisanym kontekście, co pozwala na integrację z dopasowanymi danymi kliniczno-patologicznymi i, w miarę dostępności, odpowiednim materiałem PDX. Jako model raka jelita grubego pochodzący od pacjenta o niskiej liczbie pasażów, HROC300 T2 M1 nadaje się do badań nad biologią nowotworów, powiązaniem genotyp-fenotyp oraz przedklinicznymi testami terapeutycznymi w ramach precyzyjnej onkologii.

Organism

Człowiek

Tissue

Jelito grube

Disease

Gruczolakorak, stopień zaawansowania TNM T4aN1bM1R2L0V1, stopień G2, Lk(n) + 3, Σ Lk(n) 22

Charakterystyka

Age

73 lata

Gender

Mężczyzna

Ethnicity

Kaukaski

Ogniwa HROC300 T2 M1 | 300866

Growth properties Adherent

Dane regulacyjne

Citation HROC300 T2 M1 (numer katalogowy Cytion 300866)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_VQ94

Depositor M. Linnebacher

Dane biomolekularne

MSI-status MSS

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 NaHCO₃ (numer artykułu Cytion 820400a)

Supplements Uzupetnić 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. Odrzuć 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.

Ogniwa HROC300 T2 M1 | 300866

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°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°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°C , 5% 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°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolkę do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Ogniwa HROC300 T2 M1 | 300866

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°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 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °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.

Profil STR

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