

HROC300 T2 M1 Celule | 300866

Informații generale

Description

HROC300 T2 M1 este o linie celulară de carcinom colorectal uman derivată dintr-o probă de tumoră primară rezecată de la un pacient adult din colecția de modele HROC (Hansestadt Rostock Colorectal Cancer). Denumirea „T2” indică faptul că tumora a fost obținută la un al doilea moment chirurgical, în timp ce „M1” denotă modelul in vitro corespunzător stabilit din această probă. Platforma HROC integrează biobăncarea cuprinzătoare cu generarea standardizată de xenotransplanturi derivate de la pacienți (PDX) și linii celulare permanente cu pasaje reduse, permițând modele tumorale anotate molecular din cazuri consecutive de cancer colorectal.

Stabilirea HROC300 T2 M1 a urmat un protocol standardizat care a implicat disocierea mecanică a țesutului tumoral proaspăt rezecat, filtrarea pentru a obține suspensii de celule unice și însămânțarea pe plăci de cultură acoperite cu collagen în mediu de cultură celulară tumorală definit, suplimentat cu glutamină, antibiotice și antimicotice. În cadrul cohortei HROC, linii celulare primare permanente au fost generate din aproximativ 13% din probele de carcinom colorectal încercate, stabilirea cu succes corelându-se în analiza univariată cu un grad tumoral mai ridicat și un stadiu nodal avansat. Analiza multivariată a identificat implicarea nodală ca un predictor independent al stabilirii cu succes a modelului in vitro. Aceste constatări reflectă îmbogățirea fenotipurilor biologic agresive în rândul culturilor adaptate cu succes.

În cadrul colecției HROC mai largi, modelele cuprind toate subtipurile moleculare majore de carcinom colorectal, inclusiv instabilitatea cromozomială (CIN), fenotipul metilator al insulei CpG (CIMP), tumorile stabile microsatelit (MSS) și instabile microsatelit (MSI-H), precum și diverse contexte mutaționale care afectează gene precum KRAS, BRAF, TP53, APC și PIK3CA. HROC300 T2 M1 a fost generat în acest context riguros adnotat, permițând integrarea cu date clinico-patologice corespunzătoare și, acolo unde este disponibil, cu material PDX corespunzător. Fiind un model de carcinom colorectal cu pasaje reduse, derivat de la pacienți, HROC300 T2 M1 este potrivit pentru studii de biologie tumorală, asocieri genotip-fenotip și testare terapeutică preclinică într-un cadru de oncologie de precizie.

Organism

Om

Tissue

Colorectal

Disease

Adenocarcinom, stadiul TNM T4aN1bM1R2L0V1, grading G2, Lk(n) + 3, Σ Lk(n) 22

Caracteristici

Age

73 de ani

Gender

Masculin

Ethnicity

Caucasian

Growth properties

Aderent

HROC300 T2 M1 Celule | 300866

Date de reglementare

Citation	HROC300 T2 M1 (număr de catalog Cytion 300866)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_VQ94

Date biomoleculare

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

Manipulare

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L Glucoză, w: 2,5 mM L-Glutamină, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM Piruvat de sodiu, w: 1,2 g/L NaHCO ₃ (număr articol Cytion 820400a)
Supplements	Suplimentați mediul cu 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Îndepărtați mediul vechi de pe celulele aderente și spălați-le cu PBS care nu conține calciu și magneziu. Pentru flacoanele T25, se utilizează 3-5 ml de PBS, iar pentru flacoanele T75, 5-10 ml. Apoi, se acoperă celulele complet cu Accutase, folosind 1-2 ml pentru flacoanele T25 și 2,5 ml pentru flacoanele T75. Lăsați celulele la incubare la temperatura camerei timp de 8-10 minute pentru a le detașa. După incubare, amestecați ușor celulele cu 10 ml de mediu pentru a le resuspenda, apoi centrifugați la 300xg timp de 3 minute. Aruncați supernatantul, resuspendați celulele în mediu proaspăt și transferați-le în flacoane noi care conțin deja mediu proaspăt.
Fluid renewal	La fiecare 3 până la 5 zile
Freeze medium	Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezghețare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanți optimizați și stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea și a reduce stresul indus de criogenie.

HROC300 T2 M1 Celule | 300866

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual.
7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă.
8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosferă umidificată.

Flask Coating

Niciuna

Freezing Procedure

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Shipping Conditions

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

HROC300 T2 M1 Celule | 300866

Storage Conditions

Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

Controlul calității / Profil genetic / HLA

Sterility

Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență.

Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.