

HROC222 Bunky T1 M2 | 300859

Všeobecné informácie

Description

HROC222 T1 M2 je ľudská bunka adenokarcinómu hrubého čreva a konečníka, ktorá bola vytvorená v rámci modelovej kolekcie HROC (Hansestadt Rostock Colorectal Cancer) z primárneho nádoru odstráneného z dospelého pacienta. Označenie „T1“ znamená, že vzorka bola odobratá pri prvom chirurgickom zákroku, zatiaľ čo „M2“ označuje zodpovedajúci in vitro model vytvorený z tohto nádoru. Platforma HROC integruje komplexné biobankovanie, štandardizované molekulárne anotácie a paralelné vytvorenie xenotransplantátov od pacientov (PDX) a trvalých bunkových línií s nízkym počtom pasáží, čo umožňuje klinicky anotované translačné výskumné modely.

Generovanie HROC222 T1 M2 prebiehalo podľa štandardizovaných postupov zahŕňajúcich mechanickú disociáciu čerstvo resekovaného nádorového tkaniva, prípravu suspenzií jednotlivých buniek a výsev na kultivačne platne potiahnuté kolagénom v definovanom kultivačnom médiu nádorových buniek doplnenom glutamínom, antibiotikami a antitymokinami. V rámci kohorty HROC sa podarilo vytvoriť trvalé primárne bunkové línie kolorektálneho karcinómu z približne 13 % pokusných vzoriek. Štatistická analýza identifikovala vyššie stupňovanie nádorov ako významne asociované s úspešným vytvorením primárnej bunkovej línie, zatiaľ čo pokročilý stav uzlín vykazoval pozitívny trend. V multivariačnej analýze celej kolekcie sa zapojenie uzlín ukázalo ako nezávislý prediktor úspešnosti vytvorenia modelu.

Kolekcia HROC zahŕňa všetky hlavné molekulárne podtypy kolorektálneho karcinómu, vrátane chromozómovej nestability (CIN), fenotypu metylátora CpG ostrova (CIMP), mikrosatelitovej stability (MSS) a mikrosatelitovej nestability s vysokou hodnotou (MSI-H), ako aj rôznych mutačných pozadí ovplyvňujúcich kľúčové génové faktory, ako sú KRAS, BRAF, TP53, APC a PIK3CA. HROC222 T1 M2 bol vytvorený v rámci tohto prísne charakterizovaného rámca, čo umožňuje integráciu s podrobnými klinicko-patologickými a molekulárnymi údajmi a, ak sú k dispozícii, s príslušným PDX materiálom. Ako model kolorektálneho karcinómu s nízkym počtom pasáží, odvodený od pacienta, je HROC222 T1 M2 vhodný na výskum biológie nádorov, vzťahov medzi genotypom a fenotypom a na predklinické terapeutické testovanie v rámci presného onkologického výskumu.

Organism Ľudské

Tissue Priečne hrubé črevo

Disease Adenokarcinóm

Charakteristika

Age 79 rokov

Gender Muži

Ethnicity Kaukazský

Growth properties Adherent

HROC222 Bunky T1 M2 | 300859**Regulačné údaje**

Citation	HROC222 T1 M2 (katalógové číslo Cytion 300859)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_VQ93

Biomolekulárne údaje**Spracovanie**

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glukózy, w: 2,5 mM L-glutamínu, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM pyruvátu sodného, w: 1,2 g/l NaHCO ₃ (číslo výrobku Cytion 820400a)
Supplements	Doplňte médium o 10 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredujte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.
Fluid renewal	Každých 3 až 5 dní
Freeze medium	Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

HROC222 Bunky T1 M2 | 300859

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri $300 \times g$ počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Na dosiahnutie optimálneho uchytenia a životaschopnosti po rozmrazení odporúčame používať **banky alebo platne s kolagénom**.

Freezing Procedure

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

HROC222 Bunky T1 M2 | 300859

Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.