

**Bunky HROC300 T2 M1 | 300866****Všeobecné informácie****Description**

HROC300 T2 M1 je ľudská bunka kolorektálneho karcinómu odvodená z primárneho nádoru odobratého dospelému pacientovi v rámci modelovej kolekcie HROC (Hansestadt Rostock Colorectal Cancer). Označenie „T2“ znamená, že nádor bol získaný pri druhom chirurgickom zákroku, zatiaľ čo „M1“ označuje zodpovedajúci in vitro model vytvorený z tejto vzorky. Platforma HROC integruje komplexné biobankovanie so štandardizovanou generáciou xenotransplantátov od pacientov (PDX) a trvalých bunkových línií s nízkym počtom pasáží, čo umožňuje molekulárne anotované nádorové modely z po sebe idúcich prípadov kolorektálneho karcinómu.

Vytvorenie HROC300 T2 M1 prebiehalo podľa štandardizovaného protokolu, ktorý zahŕňal mechanickú disociáciu čerstvo resekovaného nádorového tkaniva, filtráciu na získanie suspenzií jednotlivých buniek a výsev na kultivačné platne potiahnuté kolagénom v definovanom kultivačnom médiu nádorových buniek doplnenom glutamínom, antibiotikami a antimykotikami. V rámci kohorty HROC boli trvalé primárne bunkové línie vytvorené z približne 13 % pokusov o vzorky kolorektálneho karcinómu, pričom úspešné vytvorenie korelovalo v univariačnej analýze s vyšším stupňom nádoru a pokročilým stavom uzlín. Multivariačná analýza identifikovala postihnutie uzlín ako nezávislý prediktor úspešného vytvorenia in vitro modelu. Tieto zistenia odrážajú obohatenie biologicky agresívnych fenotypov medzi úspešne adaptovanými kultúrami.

V rámci širšej kolekcie HROC modely zahŕňajú 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 rôzne mutačné pozadia ovplyvňujúce gény, ako sú KRAS, BRAF, TP53, APC a PIK3CA. HROC300 T2 M1 bol vytvorený v tomto prísne anotovanom kontexte, čo umožňuje integráciu s zodpovedajúcimi klinicko-patologickými údajmi a, ak sú k dispozícii, s príslušným PDX materiálom. Ako model kolorektálneho karcinómu s nízkym počtom pasáží, odvodený od pacienta, je HROC300 T2 M1 vhodný na štúdium biológie nádorov, asociácií genotypu a fenotypu a preklinického terapeutického testovania v rámci presnej onkológie.

**Organism** Ľudské**Tissue** Kolorektálny**Disease** Adenokarcinóm, TNM štádium T4aN1bM1R2L0V1, grading G2, Lk(n) + 3, Σ Lk(n) 22**Charakteristika****Age** 73 rokov**Gender** Muži**Ethnicity** Kaukazský**Growth properties** Adherent

**Bunky HROC300 T2 M1 | 300866****Regulačné údaje****Citation** HROC300 T2 M1 (katalógové číslo Cytion 300866)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_VQ94**Biomolekulárne údaje****MSI-status** MSS**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<sub>3</sub> (číslo výrobku Cytion 820400a)**Supplements** Doplníte 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.

## Bunky HROC300 T2 M1 | 300866

### 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 %  $\text{CO}_2$ , 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.

## Bunky HROC300 T2 M1 | 300866

### 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.