

HROC222 T1 M2 celice | 300859

Splošne informacije

Description

HROC222 T1 M2 je človeška kolorektalna adenokarcinomska celična linija, vzpostavljena v okviru zbirke modelov HROC (Hansestadt Rostock Colorectal Cancer) iz primarnega tumorja, odstranjenega iz odraslega pacienta. Oznaka „T1“ pomeni, da je bil vzorec pridobljen ob prvem kirurškem posegu, medtem ko „M2“ označuje ustrezen in vitro model, ustvarjen iz tega tumorja. Platforma HROC združuje celovito biobanko, standardizirano molekularno označevanje in vzporedno vzpostavitev pacientovih ksenotransplantatov (PDX) in trajnih celičnih linij z nizkim številom prehodov, kar omogoča klinično označene translacijske raziskovalne modele.

Ustvarjanje HROC222 T1 M2 je potekalo po standardiziranih postopkih, ki vključujejo mehansko disociacijo sveže odstranjenega tumorja, pripravo suspenzij enoceličnih celic in sejanje na s kolagenom prevlečene kultivne plošče v definiranem kultivnem mediju za tumorske celice, dopolnjenem z glutaminom, antibiotiki in antimikotiki. V kohorti HROC so bile trajne primarne celične linije kolorektalnega raka uspešno vzpostavljene iz približno 13 % poskusnih vzorcev. Statistična analiza je pokazala, da je višja stopnja tumorja pomembno povezana z uspešno vzpostavitvijo primarne celične linije, medtem ko je napredno stanje bezgavk pokazalo pozitiven trend. V multivariatni analizi zbirke se je vpletenost bezgavk izkazala kot neodvisni napovednik uspešnosti vzpostavitve modela.

Zbirka HROC zajema vse glavne molekularne podtipke kolorektalnega karcinoma, vključno s kromosomsko nestabilnostjo (CIN), fenotipom metilatorja CpG otoka (CIMP), mikrosatelitsko stabilnimi (MSS) in mikrosatelitsko nestabilnimi (MSI-H) tumorji, kot tudi različnimi mutacijskimi ozadji, ki vplivajo na ključne gonilne gene, kot so KRAS, BRAF, TP53, APC in PIK3CA. HROC222 T1 M2 je bil ustvarjen v tem strogo opredeljenem okviru, kar omogoča integracijo s podrobnimi kliničnopatološkimi in molekularnimi podatki ter, kjer je to mogoče, z ustreznim PDX materialom. Kot model kolorektalnega karcinoma z nizkim številom prehodov, pridobljen iz pacientov, je HROC222 T1 M2 primeren za raziskave tumorje biologije, odnosov med genotipom in fenotipom ter predkliničnega testiranja terapij v okviru raziskav natančne onkologije.

Organism Človek

Tissue Prečno debelo črevo

Disease Adenokarcinom

Značilnosti

Age 79 let

Gender Moški

Ethnicity Kavkaški

Growth properties Pripadajoče

HROC222 T1 M2 celice | 300859

Regulativni podatki

Citation	HROC222 T1 M2 (kataloška številka Cytion 300859)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_VQ93

Biomolekularni podatki

Ravnanje s spletno stranjo

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glukoze, w: 2,5 mM L-glutamina, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natrijevega piruvata, w: 1,2 g/L NaHCO ₃ (številka izdelka Cytion 820400a)
Supplements	Gojišče dopolnite z 10 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavržite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.
Fluid renewal	Vsaj 3 do 5 dni
Freeze medium	Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročene s kriom.

HROC222 T1 M2 celice | 300859

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu krioviala takoj shranite pri temperaturi pod $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $300 \times g$ 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Flask Coating

Za optimalno pritrnitev in sposobnost preživetja po odmrznitvi priporočamo uporabo s **kolagenom prevlečenih bučk ali plošč**.

Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

HROC222 T1 M2 celice | 300859

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78°C . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vialo postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196°C . Shranjevanje pri -80°C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.