

HROC300 T2 M1 celice | 300866

Splošne informacije

Description

HROC300 T2 M1 je človeška kolorektalna karcinomska celična linija, pridobljena iz primarnega tumorja, odstranjenega iz odraslega pacienta v okviru zbirke modelov HROC (Hansestadt Rostock Colorectal Cancer). Oznaka „T2“ pomeni, da je bil tumor pridobljen v drugem kirurškem posegu, medtem ko „M1“ označuje ustrezen in vitro model, vzpostavljen iz tega vzorca. Platforma HROC združuje celovito biobanko s standardiziranim ustvarjanjem pacientovih ksenotransplantatov (PDX) in trajnih celičnih linij z nizkim številom prehodov, kar omogoča molekularno označene tumorje iz zaporednih primerov kolorektalnega raka.

Ustanovitev HROC300 T2 M1 je potekala po standardiziranem protokolu, ki vključuje mehansko disociacijo sveže odstranjenega tumorja, filtracijo za pridobitev suspenzij enoceličnih celic in sejanje na s kolagenom prevlečene kultivne plošče v definiranem kultivnem mediju za tumorske celice, dopoljenem z glutaminom, antibiotiki in antimikotiki. V kohorti HROC so bile trajne primarne celične linije ustvarjene iz približno 13 % poskusnih vzorcev kolorektalnega karcinoma, pri čemer je bila uspešna vzpostavitev v enovariantni analizi povezana z višjo stopnjo tumorja in naprednim stanjem bezgavk. Multivariatna analiza je identificirala vpletenost bezgavk kot neodvisni napovednik uspešne vzpostavitve in vitro modela. Ti izsledki odražajo obogatitev biološko agresivnih fenotipov med uspešno prilagojenimi kulturami.

V širši zbirki HROC modeli zajemajo vse glavne molekularne podtipe kolorektalnega karcinoma, vključno s kromosomsko nestabilnostjo (CIN), fenotipom metilatorja CpG otoka (CIMP), mikrosatelitsko stabilnimi (MSS) in mikrosatelitsko nestabilnimi (MSI-H) tumorji, kot tudi raznolika mutacijska ozadja, ki vplivajo na gene, kot so KRAS, BRAF, TP53, APC in PIK3CA. HROC300 T2 M1 je bil ustvarjen v tem strogo opremljenem kontekstu, kar omogoča integracijo z ustreznimi kliničnopatološkimi podatki in, kjer je to mogoče, ustreznim PDX materialom. Kot model kolorektalnega karcinoma z nizkim številom prehodov, pridobljen iz pacientov, je HROC300 T2 M1 primeren za študije tumorje biologije, povezav genotipa in fenotipa ter predkliničnega testiranja terapij v okviru natančne onkologije.

Organism Človek

Tissue Kolorektalno

Disease Adenokarcinom, stadij TNM T4aN1bM1R2L0V1, grading G2, Lk(n) + 3, Σ Lk(n) 22

Značilnosti

Age 73 let

Gender Moški

Ethnicity Kavkaški

Growth properties Pripadajoče

HROC300 T2 M1 celice | 300866

Regulativni podatki

Citation	HROC300 T2 M1 (kataloška številka Cytion 300866)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_VQ94

Biomolekularni podatki

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

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. Zavrzite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.
Fluid renewal	Vsaki 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.

HROC300 T2 M1 celice | 300866

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.

HROC300 T2 M1 celice | 300866

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.