

HROC300 T2 M1 Hücreler | 300866

Genel bilgi

Description

HROC300 T2 M1, HROC (Hansestadt Rostock Kolorektal Kanseri) model koleksiyonunda yer alan yetişkin bir hastadan rezeke edilen primer tümör örneğinden elde edilen bir insan kolorektal karsinom hücre hattıdır. "T2" tanımı, tümörün ikinci bir cerrahi aşamada alındığını gösterirken, "M1" bu örnekten oluşturulan karşılık gelen in vitro modeli belirtir. HROC platformu, kapsamlı biyobankacılık ile standartlaştırılmış hasta kaynaklı ksenograftlar (PDX) ve kalıcı düşük geçişli hücre hatlarının oluşturulmasını entegre ederek, ardışık kolorektal kanser vakalarından moleküler olarak anotanmış tümör modellerinin oluşturulmasını sağlar.

HROC300 T2 M1'in oluşturulması, taze rezeke edilmiş tümör dokusunun mekanik olarak ayrıştırılması, tek hücreli süspansiyonlar elde etmek için filtrasyon ve glutamin, antibiyotikler ve antimikotikler ile takviye edilmiş tanımlanmış tümör hücresi kültür ortamında kolajen kaplı kültür plakalarına ekme işlemlerini içeren standart bir protokol izlenerek gerçekleştirilmiştir. HROC kohortunda, denenen kolorektal karsinom örneklerinin yaklaşık %13'ünden kalıcı birincil hücre hatları oluşturuldu ve başarılı kurulum, tek değişkenli analizde daha yüksek tümör derecelendirmesi ve ileri nodal durum ile korelasyon gösterdi. Çok değişkenli analiz, nodal tutulumun başarılı in vitro model kurulumunun bağımsız bir öngörücüsü olduğunu belirledi. Bu bulgular, başarılı bir şekilde adapte edilmiş kültürler arasında biyolojik olarak agresif fenotiplerin zenginleşmesini yansıtmaktadır.

Daha geniş HROC koleksiyonu içinde, modeller kromozomal instabilite (CIN), CpG ada metilatör fenotipi (CIMP), mikrosatellit stabil (MSS) ve mikrosatellit instabilitesi yüksek (MSI-H) tümörler dahil olmak üzere kolorektal karsinomun tüm ana moleküler alt tiplerini ve KRAS, BRAF, TP53, APC ve PIK3CA gibi genleri etkileyen çeşitli mutasyonel arka planları da içermektedir. HROC300 T2 M1, bu titizlikle açıklanmış bağlamda oluşturulmuş olup, eşleşen klinikopatolojik verilerle ve mevcut olduğu durumlarda karşılık gelen PDX materyaliyle entegrasyona olanak sağlamaktadır. Düşük pasajlı, hastadan elde edilen kolorektal karsinom modeli olan HROC300 T2 M1, hassas onkoloji çerçevesi içinde tümör biyolojisi, genotip-fenotip ilişkileri ve prelinik terapötik testler için uygundur.

Organism İnsan

Tissue Kolorektal

Disease Adenokarsinom, TNM evresi T4aN1bM1R2L0V1, derecelendirme G2, Lk(n) + 3, Σ Lk(n) 22

Özellikler

Age 73 yıl

Gender Erkek

Ethnicity Kafkas

Growth properties Yapışık

HROC300 T2 M1 Hücreler | 300866**Düzenleyici Veriler**

Citation	HROC300 T2 M1 (Cytion katalog numarası 300866)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_VQ94

Biyomoleküler Veriler

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

Elleçleme

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3.1 g/L Glukoz, w: 2.5 mM L-Glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0.5 mM Sodyum piruvat, w: 1.2 g/L NaHCO ₃ (Cytion makale numarası 820400a)
Supplements	Ortamı %10 FBS ile takviye edin
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Yapışık hücrelerden eski ortamı çıkarın ve kalsiyum ve magnezyum içermeyen PBS ile yıkayın. T25 şişeleri için 3-5 ml PBS ve T75 şişeleri için 5-10 ml kullanın. Ardından, T25 flasklar için 1-2 ml ve T75 flasklar için 2,5 ml kullanarak hücreleri Accutase ile tamamen kaplayın. Hücreleri ayırmak için oda sıcaklığında 8-10 dakika inkübasyona bırakın. İnkübasyondan sonra, hücreleri yeniden süspense etmek için 10 ml besiyeriyle hafifçe karıştırın, ardından 300xg'de 3 dakika santrifüjleyin. Süpernatantı atın, hücreleri taze besiyerinde yeniden süspense edin ve zaten taze besiyeri içeren yeni şişelere aktarın.
Fluid renewal	Her 3 ila 5 günde bir
Freeze medium	Kriyoprezervasyon ortamı olarak, yeterli çözülme sonrası canlılık için tam büyüme ortamı (FBS dahil) + %10 DMSO veya iyileşmeyi artırmak ve kriyo-indüklenmiş stresi azaltmak için optimize edilmiş ozmoprotektanlar ve metabolik stabilizatörler içeren CM-1 (Cytion katalog numarası 800100) kullanıyoruz.

HROC300 T2 M1 Hücreler | 300866

Thawing and Culturing Cells

1. Hücreler taşıma sırasında optimum sıcaklıkları korumak için kuru buz üzerinde gönderildiğinden, flakonun teslimat sırasında derin dondurulmuş halde kaldığını teyit edin.
2. Teslim aldıktan sonra, hücresel bütünlüğün korunmasını sağlamak için kriyovialı hemen -150°C'nin altındaki sıcaklıklarda saklayın veya hemen kültürleme gerekiyorsa 3. adıma geçin.
3. Derhal kültürleme için flakonun temiz su ve antimikrobiyal bir madde içeren 37°C'lik bir su banyosuna daldırıp küçük bir buz kümesi kalana kadar 40-60 saniye boyunca hafifçe çalkalayarak hızlıca çözün.
4. Sonraki tüm adımları steril koşullar altında bir akış başlığı içinde gerçekleştirin ve açmadan önce kriyoviyalleri %70 etanol ile dezenfekte edin.
5. Dezenfekte edilmiş flakonun dikkatlice açın ve hücre süspansiyonunu 8 ml oda sıcaklığında kültür ortamı içeren 15 ml'lik bir santrifüj tüpüne aktarın ve hafifçe karıştırın.
6. Hücreleri ayırmak için karışımı 300 x g'de 3 dakika santrifüjleyin ve artık dondurma ortamı içeren süpernatantı dikkatlice atın.
7. Hücre pelletini 10 ml taze kültür ortamında yavaşça yeniden süspanse edin. Yapışık hücreler için, süspansiyonu iki T25 kültür şişesi arasında bölün; süspansiyon kültürleri için, etkili hücre etkileşimini ve büyümesini teşvik etmek üzere tüm ortamı tek bir T25 şişesine aktarın.
8. Hücre hattının sürekli büyümesi ve bakımı için belirlenmiş alt kültür protokollerine uyun ve güvenilir deneysel sonuçlar elde edin.

Incubation Atmosphere

37°C, %5_{CO2}, nemlendirilmiş atmosfer.

Flask Coating

Çözüldükten sonra optimum tutunma ve canlılık için **Kolajen kaplı flasklar veya plakalar** kullanmanızı öneririz.

Freezing Procedure

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

Shipping Conditions

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

HROC300 T2 M1 Hücreler | 300866

Storage Conditions

Uzun süreli muhafaza için flakonları yaklaşık -150 ila -196 °C'de buhar fazlı sıvı nitrojen içine yerleştirin. 80 °C'de saklama yalnızca sıvı nitrojene aktarılmadan önce kısa bir ara adım olarak kabul edilebilir.

Kalite kontrol / Genetik profil / HLA

Sterility

Mikoplazma kontaminasyonu hem PCR tabanlı tahliller hem de lüminesans tabanlı mikoplazma tespit yöntemleri kullanılarak dışlanır.

Bakteriyel, fungal veya maya kontaminasyonu olmadığından emin olmak için hücre kültürleri günlük görsel incelemelere tabi tutulur.