Product sheet

Клітини HROC222 T1 M2 | 300859

Загальна інформація

Description	HROC222 T1 M2 — це лінія клітин аденокарциноми товстої кишки людини, створена в рамках колекції моделей HROC (Hansestadt Rostock Colorectal Cancer) з первинної пухлини, видаленої у дорослого пацієнта. Позначення «T1» вказує на те, що зразок було отримано під час першої хірургічної операції, а «M2» позначає відповідну in vitro модель, створену на основі цієї пухлини. Платформа HROC об'єднує комплексне біобанкінг, стандартизовану молекулярну анотацію та паралельне створення ксенотрансплантатів, отриманих від пацієнтів (PDX), і постійних клітинних ліній з низьким пасажем, що дозволяє створювати клінічно анотовані трансляційні дослідницькі моделі. Створення HROC222 T1 M2 відбувалося за стандартизованими процедурами, що включали механічну дисоціацію свіжовидаленої пухлинної тканини, підготовку суспензій з одноклітинних клітин та висівання на покриті колагеном культуральні пластинки в спеціальному середовищі для культивування пухлинних клітин, доповненому глутаміном, антибіотиками та антимікотиками. У когорті HROC постійні первинні клітинні лінії колоректального раку були успішно створені з приблизно 13% зразків, що були випробувані. Статистичний аналіз виявив, що вищий ступінь злоякісності пухлини значно пов'язаний з успішним створенням первинної клітинної лінії, тоді як прогресуючий стан лімфатичних вузлів показав позитивну тенденцію. У багатофакторному аналізі всієї колекції ураження лімфатичних вузлів виявилося незалежним предиктором успіху створення моделі. Колекція HROC охоплює всі основні молекулярні підтипи колоректального раку, включаючи хромосомну нестабільність (CIN), фенотип метилування CpG-островів (CIMP), мікросателітно стабільні (MSS) та мікросателітно нестабільні (MSI-H) пухлини, а також різноманітні мутаційні фони, що впливають на ключові гени-драйвери, такі як KRAS, BRAF, TP53, APC та PIK3CA. HROC222 T1 M2 був створений в рамках цієї суворо охарактеризованої структури, що дозволяє інтегрувати детальні клініко-патологічні та молекулярні дані, а також, за наявності, відповідний матеріал PDX. Як модель колоректального раку з низьким пасажем, отримана від пацієнта, HROC222 T1 M2 підходить для досліджень біології пухлин, взаємозв'язків між генотипом і фенотипом, а також доклінічних терапевтичних випробувань в рамках досліджень в галузі прецизійної онкології.
Organism	Людина
Tissue	Поперечно-ободова кишка
Disease	Аденокарцинома
Metastatic site	Не застосовується (первинна пухлина поперечної ободової кишки; T1 M2 позначає перший хірургічний етап, модель in vitro 2)
Applications	Дослідження CRC; колоректальна аденокарцинома; біобанк HROC Linnebacher; чутливість до лікарських препаратів; біологія пухлин; інтеграція PDX та in vitro

Характеристики

Age	79 років

Клітини HROC222 T1 M2 | 300859

Gender	Чоловік
Ethnicity	Кавказець
Morphology	Епітеліальноподібні
Cell type	Епітеліальні клітини
Growth properties	Адепт

Нормативні дані

Citation	HROC222 T1 M2 (номер за каталогом Cytion 300859)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_VQ93
GMO Status	Без генетичної модифікації; клітинна лінія колоректального раку дикого типу, отримана від пацієнта (біобанк HROC Linnebacher).

Біомолекулярні дані

Обробка

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 г/л Глюкоза, w: 2,5 мМ L-глутамін, w: 15 мМ HEPES, w: 0,5 мМ Піруват натрію, w: 1,2 г/л NaHCO3 (цит. номер 820400a)
Supplements	Додайте до середовища 10% FBS
Dissociation Reagent	Аккутаза

Клітини HROC222 T1 M2 | 300859

Subculturing	Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.
Fluid renewal	Кожні 3-5 днів
Freeze medium	Як середовище кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

Thawing and Culturing Cells

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.

2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче -150°C, щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.

3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануривши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C, обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.

4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.

5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.

6. Відцентрифугуйте суміш при 300 x g протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.

7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.

8. Дотримуйтесь встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

Клітини HROC222 T1 M2 | 300859

Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, волога атмосфера.
Flask Coating	Ні
Freezing Procedure	Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.
Shipping Conditions	Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.
Storage Conditions	Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості та молекулярний аналіз

Sterility	Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми. Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибкового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.