

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 виявилось 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

Характеристики

Age 79 років

Gender Чоловік

Ethnicity Кавказець

Клітини HROC222 T1 M2 | 300859

Growth properties Адепт

Нормативні дані

Citation HROC222 T1 M2 (номер за каталогом Cytion 300859)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_VQ93

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

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.

Клітини HROC222 T1 M2 | 300859

**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, зануливши 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 $300 \times g$ 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. Дотримуйтеся встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , волога атмосфера.

Flask Coating

Ні

**Freezing
Procedure**

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній 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.

Клітини HROC222 T1 M2 | 300859

Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірених ізольованих 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 / Генетичний профіль / HLA

Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.