Product sheet

Клітини HROC300 T2 M1 | 300866

Загальна інформація

Description	HROC300 T2 M1 — це лінія клітин колоректального раку людини, отримана з зразка первинної пухлини, видаленої у дорослого пацієнта в рамках колекції моделей HROC (Hansestadt Rostock Colorectal Cancer). Позначення «T2» вказує на те, що пухлина була отримана під час другої хірургічної операції, а «M1» позначає відповідну in vitro модель, створену на основі цього зразка. Платформа HROC інтегрує комплексне біобанкінг із стандартизованим створенням ксенотрансплантатів, отриманих від пацієнтів (PDX), та постійних клітинних ліній з низьким пасажем, що дозволяє створювати молекулярно анотовані моделі пухлин з послідовних випадків колоректального раку. Створення HROC300 T2 M1 відбувалося за стандартизованим протоколом, що включав механічну дисоціацію свіжовидаленої пухлинної тканини, фільтрацію для отримання суспензій з одноклітинних клітин та висівання на покриті колагеном культуральні пластинки в визначеному середовищі для культивування пухлинних клітин, доповненому глутаміном, антибіотиками та антимікотиками. У когорті HROC постійні первинні клітинні лінії були створені приблизно з 13 % зразків колоректального раку, причому успішне створення корелювало в однофакторному аналізі з вищим ступенем злоякісності пухлини та прогресуючим станом лімфатичних вузлів. Багатофакторний аналіз визначив ураження лімфатичних вузлів як незалежний предиктор успішного створення моделі in vitro. Ці результати відображають збагачення біологічно агресивних фенотипів серед успішно адаптованих культур. У рамках більш широкої колекції HROC моделі охоплюють усі основні молекулярні підтипи колоректального раку, включаючи хромосомну нестабільність (CIN), фенотип метилування островів CpG (CIMP), мікросателітно стабільні (MSS) та мікросателітно нестабільні (MSI-H) пухлини, а також різноманітні мутаційні фони, що впливають на такі гени, як KRAS, BRAF, TP53, APC та PIK3CA. HROC300 T2 M1 був створений в цьому ретельно анотованому контексті, що дозволяє інтегрувати його з відповідними клініко-патологічними даними та, за наявності, відповідним матеріалом PDX. Як модель колоректальної карциноми з низьким пасажем, отримана від пацієнта, HROC300 T2 M1 підходить для досліджень біології пухлин, асоціацій генотипу-фенотипу та доклінічних терапевтичних випробувань в рамках прецизійної онкології.
Organism	Людина
Tissue	Колоректальний
Disease	Аденокарцинома, стадія TNM T4aN1bM1R2L0V1, градація G2, Lk(n) + 3, ∑ Lk(n) 22
Metastatic site	Наявність віддалених метастазів (TNM M1; стадія T4aN1bM1R2)
Applications	Дослідження колоректального раку; колоректальна аденокарцинома MSS; біобанк HROC Linnebacher; чутливість до ліків; моделювання колоректального раку на пізніх стадіях; біологія пухлин

Характеристики

Age	73 роки

Клітини HROC300 T2 M1 | 300866

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

Нормативні дані

Citation	HROC300 T2 M1 (номер за каталогом Cytion 300866)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_VQ94
GMO Status	Без генетичної модифікації; клітинна лінія колоректального раку дикого типу, отримана від пацієнта (біобанк HROC Linnebacher).

Біомолекулярні дані

MSI-status	MSS

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 HROC300 T2 M1 | 300866

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 HROC300 T2 M1 | 300866

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 без зволікань перемістіть флакони у відповідне місце 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.