

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 антимикотиками. 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 генотип-фенотип та доклінічних терапевтичних випробувань в рамках прецизійної онкології.

Organism Людина

Tissue Колоректальний

Disease Аденокарцинома, стадія TNM T4aN1bM1R2L0V1, градація G2, Lk(n) + 3, Σ Lk(n) 22

Характеристики

Age 73 роки

Gender Чоловік

Ethnicity Кавказець

Клітини HROC300 T2 M1 | 300866

Growth properties Адепт

Нормативні дані

Citation HROC300 T2 M1 (номер за каталогом Cytion 300866)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_VQ94

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

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 HROC300 T2 M1 | 300866

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 криовіал 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 криовіал 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

Для оптимального прикріплення та життєздатності після розморожування ми рекомендуємо використовувати **колби або пластини з колагеновим покриттям**.

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.

Клітини HROC300 T2 M1 | 300866

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, грибкового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.