

## 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,  $\Sigma$  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 NaHCO<sub>3</sub> (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 кріовіал при температурі нижче  $-150^{\circ}\text{C}$ , 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  $37^{\circ}\text{C}$ , 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**

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , 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  $-78^{\circ}\text{C}$  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, грибового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.