

Cellules HROC300 T2 M1 | 300866

Renseignements généraux

Description

HROC300 T2 M1 est une lignée cellulaire de carcinome colorectal humain dérivée d'un échantillon de tumeur primaire prélevé chez un patient adulte et issu de la collection modèle HROC (Hansestadt Rostock Colorectal Cancer). La désignation « T2 » indique que la tumeur a été prélevée lors d'une deuxième intervention chirurgicale, tandis que « M1 » désigne le modèle in vitro correspondant établi à partir de ce prélèvement. La plateforme HROC intègre une biobanque exhaustive à la production normalisée de xénogreffes dérivées de patients (PDX) et de lignées cellulaires permanentes à faible nombre de passages, permettant ainsi de créer des modèles tumoraux annotés sur le plan moléculaire à partir de cas consécutifs de cancer colorectal.

La mise en place de HROC300 T2 M1 a suivi un protocole normalisé comprenant la dissociation mécanique du tissu tumoral fraîchement résectionné, la filtration pour obtenir des suspensions de cellules individuelles, puis l'ensemencement sur des plaques de culture recouvertes de collagène dans un milieu de culture cellulaire tumoral défini, enrichi en glutamine, en antibiotiques et en antimycosiques. Au sein de la cohorte HROC, des lignées cellulaires primaires permanentes ont été générées à partir d'environ 13 % des échantillons de carcinome colorectal soumis à cette tentative; la réussite de l'établissement était corrélée, en analyse univariée, à un grade tumoral plus élevé et à un statut ganglionnaire avancé. L'analyse multivariée a permis d'identifier l'atteinte ganglionnaire comme un facteur prédictif indépendant de la réussite de l'établissement du modèle in vitro. Ces résultats reflètent l'enrichissement en phénotypes biologiquement agressifs parmi les cultures ayant été adaptées avec succès.

Au sein de la collection HROC plus large, les modèles englobent tous les principaux sous-types moléculaires du carcinome colorectal, y compris l'instabilité chromosomique (CIN), le phénotype de méthylation des îlots CpG (CIMP), les tumeurs à microsatellites stables (MSS) et à instabilité élevée des microsatellites (MSI-H), ainsi que divers profils mutationnels affectant des gènes tels que KRAS, BRAF, TP53, APC et PIK3CA. Le modèle HROC300 T2 M1 a été généré dans ce contexte rigoureusement annoté, ce qui permet son intégration avec des données clinico-pathologiques appariées et, le cas échéant, avec le matériel PDX correspondant. En tant que modèle de carcinome colorectal dérivé de patients et à faible nombre de passages, HROC300 T2 M1 convient aux études sur la biologie tumorale, aux associations génotype-phénotype et aux essais thérapeutiques précliniques dans le cadre de l'oncologie de précision.

Organism

Humain

Tissue

Colorectal

Disease

Adénocarcinome, stade TNM T4aN1bM1R2L0V1, grade G2, Lk(n) + 3, Σ Lk(n) 22

Metastatic site

Présence de métastases à distance (TNM M1; stade T4aN1bM1R2)

Applications

Recherche sur le cancer colorectal; adénocarcinome colorectal MSS; biobanque HROC Linnebacher; sensibilité aux médicaments; modélisation du cancer colorectal à un stade avancé; biologie tumorale

Caractéristiques

Age

73 ans

Cellules HROC300 T2 M1 | 300866

Gender Homme**Ethnicity** caucasien**Morphology** De type épithélial**Cell type** Cellules épithéliales**Growth properties** Adeptes

Données réglementaires

Citation HROC300 T2 M1 (numéro de catalogue Cytion 300866)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_VQ94**GMO Status** Sans modification génétique; lignée cellulaire de CCR de type sauvage dérivée d'un patient (biobanque HROC Linnebacher).

Données biomoléculaires

MSI-status MSS

Manipulation

Culture Medium DMEM : F12 de Ham (1:1), p/v : 3,1 g/L de glucose, p/v : 2,5 mM de L-glutamine, p/v : 15 mM d'HEPES, 0,5 mM de pyruvate de sodium, 1,2 g/L de NaHCO₃ (référence Cytion 820400a)**Supplements** Ajouter 10 % de FBS au milieu de culture**Dissociation Reagent** Accutase

Cellules HROC300 T2 M1 | 300866**Subculturing**

Retirez l'ancien milieu des cellules adhérentes et lavez-les avec du PBS sans calcium ni magnésium. Pour les flacons T25, utilisez 3 à 5 ml de PBS, et pour les flacons T75, utilisez 5 à 10 ml. Ensuite, recouvrez complètement les cellules d'Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laissez les cellules incuber à température ambiante pendant 8 à 10 minutes afin de les détacher. Après l'incubation, mélangez délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifugez à 300 x g pendant 3 minutes. Éliminez le surnageant, remettez les cellules en suspension dans du milieu frais, puis transférez-les dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.

Fluid renewal

Tous les 3 à 5 jours

Freeze medium

Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (contenant du sérum fœtal bovin) + 10 % de DMSO pour assurer une viabilité adéquate après décongélation, ou du CM-1 (référence Cytion 800100), qui contient des osmoprotecteurs et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryoconservation.

Thawing and Culturing Cells

1. Assurez-vous que le flacon reste bien congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche afin de maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. À la réception, conservez immédiatement le cryofiole à une température inférieure à -150 °C pour garantir la préservation de l'intégrité cellulaire, ou passez à l'étape 3 si une culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une culture immédiate, décongelez rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37 °C contenant de l'eau propre et un agent antimicrobien, en agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit morceau de glace.
4. Effectuez toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux laminaire, en désinfectant le cryotube avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrez avec précaution le flacon désinfecté et transférez la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant délicatement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules, puis jeter avec précaution le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre délicatement le culot cellulaire en suspension dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension dans deux flacons de culture T25; pour les cultures en suspension, transférer la totalité du milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance cellulaires efficaces.
8. Respectez les protocoles de sous-culture établis pour assurer la croissance continue et le maintien de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Cellules HROC300 T2 M1 | 300866

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 %_{de} CO₂, atmosphère humidifiée.

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées dans de la glace sèche, dans un emballage isotherme validé contenant suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C pendant tout le transport. À la réception, inspectez immédiatement le conteneur et transférez sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placez les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre environ -150 et -196 °C. L'entreposage à -80 °C n'est acceptable qu'à titre d'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle de la qualité et analyse moléculaire

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes par luminescence.

Afin de s'assurer qu'il n'y a aucune contamination bactérienne, fongique ou par des levures, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.