

Tế bào HROC300 T2 M1 | 300866

Thông tin chung

Description

HROC300 T2 M1 là dòng tế bào ung thư đại trực tràng của người được phân lập từ mẫu khối u nguyên phát được phẫu thuật cắt bỏ từ bệnh nhân người lớn trong bộ sưu tập mô hình HROC (Hansestadt Rostock Colorectal Cancer). Ký hiệu “T2” cho biết khối u được thu thập tại thời điểm phẫu thuật thứ hai, trong khi “M1” chỉ định mô hình in vitro tương ứng được thiết lập từ mẫu này. Nền tảng HROC tích hợp lưu trữ sinh học toàn diện với việc tạo ra các mô hình xenograft từ bệnh nhân (PDX) và dòng tế bào vĩnh viễn có số lần truyền thấp theo tiêu chuẩn, cho phép tạo ra các mô hình khối u được chú thích phân tử từ các trường hợp ung thư đại trực tràng liên tiếp.

Việc thiết lập HROC300 T2 M1 tuân theo quy trình tiêu chuẩn bao gồm phân tách cơ học mô khối u mới được phẫu thuật, lọc để thu được hỗn hợp tế bào đơn lẻ, và gieo lên đĩa nuôi cấy phủ collagen trong môi trường nuôi cấy tế bào khối u được bổ sung glutamine, kháng sinh và kháng nấm. Trong nhóm HROC, dòng tế bào nguyên phát vĩnh viễn được tạo ra từ khoảng 13% mẫu ung thư đại trực tràng được thử nghiệm, với việc thiết lập thành công có liên quan trong phân tích đơn biến với mức độ phân loại khối u cao hơn và tình trạng hạch tiến triển. Phân tích đa biến xác định sự tham gia của hạch là yếu tố dự báo độc lập cho việc thiết lập thành công mô hình in vitro. Những phát hiện này phản ánh sự phong phú của các biểu hiện sinh học hung hãn trong các văn hóa được thích nghi thành công.

Trong bộ sưu tập HROC rộng hơn, các mô hình bao gồm tất cả các kiểu phân tử chính của ung thư đại trực tràng, bao gồm bất ổn nhiễm sắc thể (CIN), kiểu hình methyl hóa đảo CpG (CIMP), ổn định microsatellite (MSS) và không ổn định microsatellite cao (MSI-H), cũng như các nền tảng đột biến đa dạng ảnh hưởng đến các gen như KRAS, BRAF, TP53, APC và PIK3CA. HROC300 T2 M1 được tạo ra trong bối cảnh được chú thích kỹ lưỡng này, cho phép tích hợp với dữ liệu lâm sàng-giải phẫu tương ứng và, nếu có sẵn, vật liệu PDX tương ứng. Là một mô hình ung thư đại trực tràng được lấy từ bệnh nhân với số lần truyền thấp, HROC300 T2 M1 phù hợp cho các nghiên cứu về sinh học khối u, mối quan hệ giữa kiểu gen và kiểu hình, cũng như thử nghiệm điều trị tiền lâm sàng trong khung cảnh y học chính xác.

Organism Con người

Tissue Đại tràng và trực tràng

Disease Ung thư biểu mô tuyến, giai đoạn TNM T4aN1bM1R2L0V1, độ phân biệt G2, Lk(n) + 3, Σ Lk(n) 22

Đặc điểm

Age 73 năm

Gender Nam

Ethnicity Người da trắng

Growth properties Người tuân thủ

Tế bào HROC300 T2 M1 | 300866

Dữ liệu quy định

Citation	HROC300 T2 M1 (Số catalog Cytion 300866)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_VQ94

Dữ liệu sinh học phân tử

MSI-status	MSS
-------------------	-----

Xử lý

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (tỷ lệ 1:1), chứa: 3,1 g/L glucose, chứa: 2,5 mM L-glutamine, chứa: 15 mM HEPES, chứa: 0,5 mM natri pyruvate, chứa: 1,2 g/L NaHCO ₃ (Số hiệu sản phẩm Cytion 820400a)
Supplements	Bổ sung 10% huyết thanh bò phôi (FBS) vào môi trường nuôi cấy
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Loại bỏ môi trường nuôi cấy cũ khỏi các tế bào bám dính và rửa chúng bằng PBS không chứa canxi và magiê. Đối với bình T25, sử dụng 3-5 ml PBS, và đối với bình T75, sử dụng 5-10 ml. Sau đó, phủ hoàn toàn các tế bào bằng Accutase, sử dụng 1-2 ml cho bình T25 và 2,5 ml cho bình T75. Để tế bào ủ ở nhiệt độ phòng trong 8-10 phút để tách chúng ra. Sau khi ủ, nhẹ nhàng trộn tế bào với 10 ml môi trường để tái phân tán chúng, sau đó ly tâm ở 300xg trong 3 phút. Loại bỏ dịch trên, tái phân tán tế bào trong môi trường tươi và chuyển chúng vào các bình mới đã chứa môi trường tươi.
Fluid renewal	Mỗi 3 đến 5 ngày
Freeze medium	Như một môi trường bảo quản đông lạnh, chúng tôi sử dụng môi trường tăng trưởng hoàn chỉnh (bao gồm FBS) + 10% DMSO để đảm bảo độ sống sau khi rã đông, hoặc CM-1 (mã sản phẩm Cytion 800100), bao gồm các chất bảo vệ thẩm thấu và chất ổn định chuyển hóa được tối ưu hóa để nâng cao khả năng phục hồi và giảm stress do đông lạnh gây ra.

Tế bào HROC300 T2 M1 | 300866

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Xác nhận rằng ống nghiệm vẫn được đông lạnh sâu khi giao hàng, vì tế bào được vận chuyển trên đá khô để duy trì nhiệt độ tối ưu trong quá trình vận chuyển.
2. Khi nhận hàng, hãy bảo quản ống nghiệm đông lạnh ngay lập tức ở nhiệt độ dưới -150°C để đảm bảo tính toàn vẹn của tế bào, hoặc tiến hành bước 3 nếu cần nuôi cấy ngay lập tức.
3. Để nuôi cấy ngay lập tức, hãy rã đông ống nghiệm nhanh chóng bằng cách ngâm nó trong bồn nước 37°C với nước sạch và chất kháng khuẩn, khuấy nhẹ trong 40-60 giây cho đến khi còn lại một khối băng nhỏ.
4. Thực hiện tất cả các bước tiếp theo trong điều kiện vô trùng trong tủ hút khí, khử trùng ống cryovial bằng cồn 70% trước khi mở.
5. Mở ống đã khử trùng một cách cẩn thận và chuyển hỗn hợp tế bào vào ống ly tâm 15 ml chứa 8 ml môi trường nuôi cấy ở nhiệt độ phòng, khuấy nhẹ.
6. Ly tâm hỗn hợp ở $300 \times g$ trong 3 phút để tách tế bào và cẩn thận loại bỏ dịch siêu âm chứa môi trường đông lạnh còn lại.
7. Nhẹ nhàng hòa tan lại khối tế bào trong 10 ml môi trường nuôi cấy tươi. Đối với tế bào bám dính, chia hỗn hợp vào hai bình nuôi cấy T25; đối với tế bào nuôi cấy lơ lửng, chuyển toàn bộ môi trường vào một bình T25 để thúc đẩy tương tác và phát triển tế bào hiệu quả.
8. Tuân thủ các quy trình nuôi cấy con được thiết lập để duy trì sự phát triển và bảo quản dòng tế bào, đảm bảo kết quả thí nghiệm đáng tin cậy.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , môi trường ẩm.

Flask Coating

Để đạt được độ bám dính và khả năng sống sót tối ưu sau khi rã đông, chúng tôi khuyến nghị sử dụng **các ống nghiệm hoặc đĩa được phủ collagen**.

**Freezing
Procedure**

Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng -78°C trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.

Tế bào HROC300 T2 M1 | 300866

Shipping Conditions

Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng -78°C trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.

Storage Conditions

Để bảo quản lâu dài, hãy đặt ống nghiệm vào nitơ lỏng ở pha hơi ở nhiệt độ khoảng -150 đến -196°C . Việc bảo quản ở -80°C chỉ được chấp nhận như một bước trung gian ngắn hạn trước khi chuyển sang nitơ lỏng.

Kiểm soát chất lượng / Hồ sơ di truyền / HLA

Sterility

Sự nhiễm khuẩn Mycoplasma được loại trừ bằng cả các phương pháp xét nghiệm dựa trên PCR và các phương pháp phát hiện Mycoplasma dựa trên phát quang.

Để đảm bảo không có nhiễm khuẩn vi khuẩn, nấm hoặc men, các mẫu nuôi cấy tế bào được kiểm tra trực quan hàng ngày.