HROC222 1. semestris, 2. mēnesis

300859

VISPĀRĪGA INFORMĀCIJA

Apraksts

HROC222 T1 M2 ir cilvēka kolorektālā adenokarcinoma šūnu līnija, kas izveidota HROC (Hansestadt Rostock Colorectal Cancer) modeļu kolekcijā no primārā audzēja, kas izgriezts pieaugušam pacientam. Apzīmējums „T1" norāda, ka paraugs tika iegūts pirmajā operācijas brīdī, bet „M2" apzīmē atbilstošo in vitro modeli, kas izveidots no šī audzēja. HROC platforma integrē visaptverošu biobanku, standartizētu molekulāro anotāciju un paralēlu pacientu izcelsmes ksenotransplantātu (PDX) un pastāvīgu zemu pasāžu šūnu līniju izveidi, nodrošinot klīniski anotētus translacionālos pētījumu modeļus.
HROC222 T1 M2 izveide notika saskaņā ar standartizētām procedūrām, kas ietvēra svaigi izgriezta audzēja audu mehānisku disociāciju, vienšūnu suspensiju sagatavošanu un sēšanu uz kolagēna pārklātām kultūras platēm noteiktā audzēja šūnu kultūras vidē, kas papildināta ar glutamīnu, antibiotikām un antimikotiskām vielām. Visā HROC kohortā pastāvīgas primārās kolorektālā vēža šūnu līnijas tika veiksmīgi izveidotas no aptuveni 13 % mēģināto paraugu. Statistiskā analīze identificēja augstāku audzēja pakāpi kā būtiski saistītu ar veiksmīgu primārās šūnu līnijas izveidi, savukārt progresējošs limfmezglu stāvoklis parādīja pozitīvu tendenci. Daudzfaktoru analīzē visā kolekcijā limfmezglu iesaistīšanās izrādījās neatkarīgs modelis izveides panākumu prognozētājs.
HROC kolekcija ietver visus galvenos kolorektālā karcinoma molekulāros apakštipus, tostarp hromosomu nestabilitāti (CIN), CpG salu metilatoru fenotipu (CIMP), mikrosatelītu stabilitāti (MSS) un mikrosatelītu nestabilitāti (MSI-H), kā arī dažādus mutāciju fonus, kas ietekmē galvenos virzošos gēnus, piemēram, KRAS, BRAF, TP53, APC un PIK3CA. HROC222 T1 M2 tika izveidots šajā stingri raksturotajā sistēmā, ļaujot integrēt detalizētus klīnikopatoloģiskos un molekulāros datus un, ja pieejams, atbilstošo PDX materiālu. Kā zema pasāža, no pacientiem iegūts kolorektālā karcinoma modelis, HROC222 T1 M2 ir piemērots audzēja bioloģijas, genotipa un fenotipa attiecību izpētei un pirmsklīniskai terapeitiskai testēšanai precīzās onkoloģijas pētījumos.

Audums	Šķērsvirziena resnās zarnas
Slimība	Adenokarcinoma
Metastāžu vieta	Neattiecas (primārs šķērsveida resnās zarnas audzējs; T1 M2 apzīmē pirmo ķirurģisko posmu, in vitro modelis 2)

Pieteikumi

CRC pētījumi; kolorektālā adenokarcinoma; HROC Linnebacher biobanka; jutība pret zālēm; audzēja bioloģija; PDX un in vitro integrācija

KLASIFIKĀCIJA

Organisms	Cilvēks
Sekss	Vīrietis
Augšanas īpašības	Atbalstītājs
ĢMO statuss	Bez ĢMO

Sīkāka informācija par ĢMO statusu

No genetic modification; wildtype patient-derived CRC cell line (HROC Linnebacher biobank).

Bioloģiskās drošības līmenis	1

RAKSTURLIELUMI

Morfoloģija	Epitēlijveidīgs
Šūnu tips	Epitēlija šūnas

Cytion GmbH
Nikola-Tesla-Str. 3
69124 Heidelberg
Tel: +49 (0)6221 405780
info@cytion.com
cytion.com

Registered office Heidelberg
VAT ID: DE283292917
Local court Mannheim - HRB 714394
CEO / Geschäftsführer: Jonathan Steubing

Banking information
Sparkasse Heidelberg
IBAN: DE35 6725 0020 0009 2076 86
BIC: SOLADES1HDB

IDENTIFIKATORI

Atsauce

HROC222 T1 M2 (Cytion kataloga numurs 300859)

NCBI nodokļu identifikācijas numurs	9606
Cellosaurus	CVCL_VQ93

APSTRĀDE UN AUDZĒŠANA

Barotne

DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glikozes, w: 2,5 mM L-glutamīna, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM nātrija piruvāta, w: 1,2 g/l NaHCO3 (Cytion izstrādājuma numurs 820400a)

Inkubācijas vide	37°C, 5%CO2, mitrināta atmosfēra.

Papildinājumi

Papildināt barotni ar 10% FBS

Disociācijas reaģents	Accutase

Pārstādīšana

Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.

Šķidruma atjaunošana	Ik pēc 3 līdz 5 dienām

Atkausēšana un kultivēšana

Confirm that the vial remains deeply frozen upon delivery, as cells are shipped on dry ice to maintain optimal temperatures during transit. Upon receipt, either store the cryovial immediately at temperatures below -150°C to ensure the preservation of cellular integrity, or proceed to step 3 if immediate culturing is required.
For immediate culturing, swiftly thaw the vial by immersing it in a 37°C water bath with clean water and an antimicrobial agent, agitating gently for 40-60 seconds until a small ice clump remains.
Perform all subsequent steps under sterile conditions in a flow hood, disinfecting the cryovial with 70% ethanol before opening.
Carefully open the disinfected vial and transfer the cell suspension into a 15 ml centrifuge tube containing 8 ml of room-temperature culture medium, mixing gently.
Centrifuge the mixture at 300 x g for 3 minutes to separate the cells and carefully discard the supernatant containing residual freezing medium.
Gently resuspend the cell pellet in 10 ml of fresh culture medium. For adherent cells, divide the suspension between two T25 culture flasks; for suspension cultures, transfer all the medium into one T25 flask to promote effective cell interaction and growth.
Adhere to established subculture protocols for continued growth and maintenance of the cell line, ensuring reliable experimental outcomes.

KVALITĀTES KONTROLE UN KRIOKONSERVĀCIJA

Sterilitāte

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.
Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.

Saldēšanas barotne	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

Uzglabāšanas nosacījumi

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpeklī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Piegādes nosacījumi

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

ZIEDOTĀJS

Donora vecums	79 gadi
Etniskā piederība	Kaukāzietis

JURIDISKIE JAUTĀJUMI UN DROŠĪBA

Drošības pasākumi

Plānojot uzglabāt kriokviālu šķidrā slāpeklī turpmākai atkausēšanai, obligāti jāievēro stingri drošības pasākumi. Ir nepieciešami piemēroti aizsargcimdi un apģērbs, un, pārvietojot sasaldētos paraugus uz šķidrā slāpekļa tvertni vai no tās, ir jālieto sejas maska vai aizsargbrilles. Tas jādara, lai mazinātu traumu risku, ko var radīt iespējamas kriokrioviālu eksplozijas, kas var izraisīt asu fragmentu izmešanu.

Garantija

Uzņēmumā Cytion mēs atbalstām savu produktu kvalitāti un dzīvotspēju.
Mēs garantējam, ka mūsu šūnas būs dzīvotspējīgas kultivēšanas sākumā 60 dienas pēc nosūtīšanas no mūsu ražotnēm.
Mēs nodrošinām, ka visi materiāli atbilst analīzes sertifikātā un/vai produkta lapā aprakstītajām specifikācijām
Lai iegūtu sīkāku informāciju, lūdzu, skatiet mūsu <a href=""/"/Kas mēs esam/garantija/"" hreflang=""x-default"">Garantijas paziņojumu

Tiek piemēroti līgumi ar trešajām personām	Yes