HROC300, семестр 2, тиждень 1

300866

ЗАГАЛЬНА ІНФОРМАЦІЯ

Опис

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 антимікотиками. 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 генотипу-фенотипу та доклінічних терапевтичних випробувань в рамках прецизійної онкології.

Тканина	Колоректальний
Хвороба	Аденокарцинома, стадія TNM T4aN1bM1R2L0V1, градація G2, Lk(n) + 3, ∑ Lk(n) 22
Місце метастазування	Наявність віддалених метастазів (TNM M1; стадія T4aN1bM1R2)

Застосування

Дослідження колоректального раку; колоректальна аденокарцинома MSS; біобанк HROC Linnebacher; чутливість до ліків; моделювання колоректального раку на пізніх стадіях; біологія пухлин

КЛАСИФІКАЦІЯ

Організм	Людина
Секс	Чоловік
Характеристики росту	Прихильник
Статус ГМО	Без ГМО

Детальна інформація щодо статусу ГМО

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

Рівень біобезпеки	1

ХАРАКТЕРИСТИКИ

Морфологія	Епітеліальноподібні

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

Тип клітини	Епітеліальні клітини
Статус MSI	MSS

ІДЕНТИФІКАТОРИ

Посилання

HROC300 T2 M1 (номер за каталогом Cytion 300866)

Ідентифікаційний номер платника податків NCBI	9606
Целозавр	CVCL_VQ94

ОБРОБКА ТА ВИРОЩУВАННЯ

Живильне середовище

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)

Атмосфера інкубації	37°C, 5% CO2, волога атмосфера.

Добавки

Додайте до середовища 10% FBS

Реагент для дисоціації	Аккутаза

Пересадка в нове середовище

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.

Оновлення рідини	Кожні 3-5 днів

Розморожування та культивування

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.

КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ ТА КРІОКОНСЕРВАЦІЯ

Стерильність

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.

Середовище для заморожування	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.

Умови зберігання

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.

Умови доставки

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 без зволікань перемістіть флакони у відповідне місце зберігання.

ДОНОР

Вік донора	73 роки
Етнічна приналежність	Кавказець

ПРАВОВІ ПИТАННЯ ТА БЕЗПЕКА

Заходи безпеки

Плануючи зберігати кріовіал у рідкому азоті для подальшого розморожування, обов'язково слід дотримуватися суворих заходів безпеки. Під час перенесення заморожених зразків до резервуара з рідким азотом або з нього необхідно використовувати захисні рукавички та одяг, а також маску або захисні окуляри. Це необхідно для того, щоб зменшити ризик травмування від потенційних кріогенних вибухів при вилученні, які можуть призвести до розльоту гострих осколків.

Гарантія

У Cytion ми відповідаємо за якість та життєздатність нашої продукції.
Ми гарантуємо, що наші клітини будуть життєздатними на початку культивування протягом 60 днів після відвантаження з нашого заводу.
Ми запевняємо, що всі матеріали відповідають специфікаціям, описаним у сертифікаті аналізу та/або паспорті продукту
Для отримання більш детальної інформації, будь ласка, зверніться до нашого Заяви про гарантію

Діють угоди з третіми сторонами	Yes