

Клетки HROC348Met | 300871

Обща информация

Description

HROC348Met е клетъчна линия от човешки колоректален карцином, създадена от метакхронен метастаз в черния дроб на колоректален аденокарцином, резециран от възрастен пациент в рамките на колекцията от модели HROC (Hansestadt Rostock Colorectal Cancer). Платформата HROC е създадена чрез стандартизирана биобанка и тръбопровод за моделиране на тумори, интегриращ клинични анотации, молекулярна характеристика, ксенографти, получени от пациенти (PDX), и съответни *in vitro* култури. HROC348Met представлява един от метастатичните модели, получени от хирургично резецирана колоректална ракова тъкан, и е създаден при условия на ниско пасиране, за да се запазят тумор-специфичните биологични характеристики.

В колекцията HROC метастатичните проби – особено метастазите в черния дроб – демонстрираха висока ефективност на присаждане при имунодефицитни мишки, с обща степен на прием на PDX от приблизително 68% в кохортата и дори по-висок успех за метастатичните тумори в сравнение с първичните. Многовариантните анализи идентифицираха засягане на лимфните възли и активиращи мутации в KRAS и BRAF като независими предиктори за успешно създаване на модел. Колекцията обхваща всички основни молекулни подтипове на колоректален карцином, включително хромозомна нестабилност (CIN), фенотип на метилатор на CpG острови (CIMP), микросателитна стабилност (MSS) и микросателитна нестабилност с висока степен (MSI-H), като гарантира молекулярна представителност на заболяването в напреднал стадий. HROC348Met беше създаден в рамките на тази строго характеризирани рамка, с клиникопатологични и молекулярни анотации в съответствие със стандартизирани протоколи.

Като модел на колоректален карцином с ниска степен на метастазирание, HROC348Met е подходящ за изследвания на биологията на метастатичните тумори, корелациите между генотип и фенотип и тестване на терапевтичния отговор както в 2D култура, така и в PDX условия *in vivo*. Интегрираният подход на биобанката, който стои в основата на неговото създаване, гарантира наличието на съответстващи клинични данни и, където е приложимо, съответстващ ксенографт материал, което позволява транслационни проучвания в прецизната онкология и прогнозиране на реакцията към лекарства.

Organism Човек

Tissue Метастази в черния дроб

Disease Аденокарцином

Metastatic site Черен дроб

Характеристики

Age 77 години

Gender Мъжки

Клетки HROC348Met | 300871

Ethnicity	Кавказки
------------------	----------

Growth properties	Придържачи се
--------------------------	---------------

Регулаторни данни

Citation	HROC348Met (каталожен номер 300871 на Cytion)
-----------------	---

Biosafety level	1
------------------------	---

NCBI_TaxID	9606
-------------------	------

CellosaurusAccession	CVCL_1U99
-----------------------------	-----------

Биомолекулярни данни

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

Работа с

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L глюкоза, w: 2,5 mM L-глутамин, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM натриев пируват, w: 1,2 g/L NaHCO ₃ (номер на изделието на Cytion 820400a)
-----------------------	---

Supplements	Допълнете средата с 10% FBS
--------------------	-----------------------------

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

Subculturing	Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.
---------------------	---

Fluid renewal	На всеки 3 до 5 дни
----------------------	---------------------

Клетки HROC348Met | 300871

Freeze medium

Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при $300 \times g$ в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

За оптимално прикрепване и жизнеспособност след размразяване препоръчваме да се използват **колби или плаки с колагеново покритие**.

Клетки HROC348Met | 300871

Freezing Procedure

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196°C . Съхранението при -80°C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.