

Buňky HROC348Met | 300871**Obecné informace****Description**

HROC348Met je lidská buněčná linie kolorektálního karcinomu vytvořená z metachronní jaterní metastázy kolorektálního adenokarcinomu resekovaného u dospělého pacienta v rámci modelové sbírky HROC (Hansestadt Rostock Colorectal Cancer). Platforma HROC byla vytvořena prostřednictvím standardizovaného biobankingu a modelování nádorů integrujícího klinické anotace, molekulární charakterizaci, xenotransplantáty odvozené od pacientů (PDX) a odpovídající in vitro kultury. HROC348Met představuje jeden z metastatických modelů odvozených z chirurgicky resekované tkáni kolorektálního karcinomu a byl vytvořen za podmínek nízkého počtu pasáží, aby se zachovaly biologické vlastnosti specifické pro nádor.

V rámci kolekce HROC vykazovaly metastatické vzorky – zejména jaterní metastázy – vysokou účinnost při štěpování u imunodeficientních myší, s celkovou úspěšností PDX přibližně 68 % v celé kohortě, a ještě vyšší úspěšností u metastatických nádorů ve srovnání s primárními nádory. Multivariační analýzy identifikovaly postižení uzlin a aktivující mutace v KRAS a BRAF jako nezávislé prediktory úspěšného vytvoření modelu. Kolekce zahrnuje všechny hlavní molekulární podtypy kolorektálního karcinomu, včetně chromozomální nestability (CIN), fenotypu metylátoru CpG ostrovů (CIMP), mikrosatelitů stabilních (MSS) a mikrosatelitů vysoce nestabilních (MSI-H) nádorů, což zajišťuje molekulární reprezentativnost pokročilého stadia onemocnění. HROC348Met byl vytvořen v rámci tohoto přísně charakterizovaného rámce s klinicko-patologickými a molekulárními anotacemi podle standardizovaných protokolů.

Jako model kolorektálního karcinomu odvozený z metastáz s nízkým počtem pasáží je HROC348Met vhodný pro výzkum biologie metastatických nádorů, korelací genotypu a fenotypu a testování terapeutické odezvy jak v 2D kultuře, tak v in vivo PDX nastavení. Integrovaný přístup biobanky, na kterém je založeno jeho vytvoření, zajišťuje dostupnost odpovídajících klinických dat a, kde je to možné, odpovídajícího xenotransplantačního materiálu, což umožňuje translační studie v přesné onkologii a predikci odezvy na léky.

Organism Člověk**Tissue** Jaterní metastázy**Disease** Adenokarcinom**Metastatic site** Játra**Charakteristika****Age** 77 let**Gender** Muži**Ethnicity** Kavkazský**Growth properties** Adherentní

Buňky HROC348Met | 300871**Regulační údaje**

Citation	HROC348Met (katalogové číslo Cytion 300871)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1U99
Depositor	M. Linnebacher

Biomolekulární data

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

Zpracování

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glukózy, w: 2,5 mM L-Glutaminu, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM pyruvátu sodného, w: 1,2 g/l NaHCO ₃ (číslo výrobku Cytion 820400a)
Supplements	Doplňte médium o 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.
Fluid renewal	Každých 3 až 5 dní
Freeze medium	Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Buňky HROC348Met | 300871**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstřeďte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žádný

**Freezing
Procedure**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

**Shipping
Conditions**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Buňky HROC348Met | 300871

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.

Profil STR

Amelogenin: x,y
CSF1PO: 8.3,9.3
D13S317: 12
D5S818: 11,12
TH01: 8.3
TPOX: 7.3,8.3
vWA: 18.1