

Κύτταρα HROC348Met | 300871

Γενικές πληροφορίες

Description

Το HROC348Met είναι μια ανθρώπινη κυτταρική σειρά καρκίνου του παχέος εντέρου που δημιουργήθηκε από μια μεταχρονική μεταστατική ηπατική βλάβη ενός αδενοκαρκινώματος του παχέος εντέρου που αφαιρέθηκε από έναν ενήλικα ασθενή στο πλαίσιο της συλλογής μοντέλων HROC (Hansestadt Rostock Colorectal Cancer). Η πλατφόρμα HROC δημιουργήθηκε μέσω μιας τυποποιημένης διαδικασίας βιοτράπεζας και μοντελοποίησης όγκων που ενσωματώνει κλινικές σημειώσεις, μοριακό χαρακτηρισμό, ξενομοσχέματα προερχόμενα από ασθενείς (PDX) και αντίστοιχες καλλιέργειες in vitro. Το HROC348Met αντιπροσωπεύει ένα από τα μεταστατικά μοντέλα που προέρχονται από χειρουργικά εκτομισθέντα ιστό καρκίνου του παχέος εντέρου και δημιουργήθηκε υπό συνθήκες χαμηλού περάσματος για τη διατήρηση των βιολογικών χαρακτηριστικών του όγκου.

Στη συλλογή HROC, τα μεταστατικά δείγματα - ιδίως οι μεταστάσεις στο ήπαρ - έδειξαν υψηλή αποτελεσματικότητα εμφύτευσης σε ποντίκια με ανοσοανεπάρκεια, με συνολικό ποσοστό επιτυχίας PDX περίπου 68% σε ολόκληρη την κοόρτη, και ακόμη μεγαλύτερη επιτυχία για τους μεταστατικούς όγκους σε σύγκριση με τους πρωτοπαθείς όγκους. Πολυπαραγοντικές αναλύσεις εντόπισαν τη συμμετοχή των λεμφαδένων και τις ενεργοποιητικές μεταλλάξεις στα γονίδια KRAS και BRAF ως ανεξάρτητους προγνωστικούς παράγοντες για την επιτυχή δημιουργία μοντέλου. Η συλλογή περιλαμβάνει όλους τους κύριους μοριακούς υποτύπους του καρκίνου του παχέος εντέρου, συμπεριλαμβανομένων των όγκων με χρωμοσωμική αστάθεια (CIN), φαινότυπο μεθυλίωσης νησίδων CpG (CIMP), σταθερότητα μικροδορυφόρων (MSS) και υψηλή αστάθεια μικροδορυφόρων (MSI-H), εξασφαλίζοντας τη μοριακή αντιπροσωπευτικότητα της νόσου σε προχωρημένο στάδιο. Το HROC348Met δημιουργήθηκε μέσα σε αυτό το αυστηρά χαρακτηρισμένο πλαίσιο, με κλινικοπαθολογική και μοριακή σχολιασμό σύμφωνα με τυποποιημένα πρωτόκολλα.

Ως μοντέλο καρκίνου του παχέος εντέρου χαμηλής διέλευσης που προέρχεται από μετάσταση, το HROC348Met είναι κατάλληλο για έρευνες σχετικά με τη βιολογία των μεταστατικών όγκων, τις συσχετίσεις γονότυπου-φαινότυπου και τις δοκιμές θεραπευτικής απόκρισης τόσο σε καλλιέργειες 2D όσο και σε περιβάλλοντα PDX in vivo. Η ολοκληρωμένη προσέγγιση της βιοτράπεζας που αποτελεί τη βάση της δημιουργίας του εξασφαλίζει τη διαθεσιμότητα αντίστοιχων κλινικών δεδομένων και, όπου είναι δυνατό, αντίστοιχου υλικού ξενομοσχέματος, επιτρέποντας μεταφραστικές μελέτες στην ογκολογία ακριβείας και την πρόβλεψη της απόκρισης στα φάρμακα.

Organism Ανθρώπινο

Tissue Μεταστάσεις στο ήπαρ

Disease Αδενοκαρκίνωμα

Metastatic site Ήπαρ

Χαρακτηριστικά

Age 77 χρόνια

Gender Άντρας

Κύτταρα HROC348Met | 300871

Ethnicity Καυκάσιος

Growth properties Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation HROC348Met (αριθμός καταλόγου Cytion 300871)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_1U99

Βιομοριακά δεδομένα

MSI-status MSS

Χειρισμός

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L γλυκόζη, w: 2,5 mM L-γλουταμίνη, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM πυρουβικό νάτριο, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (αριθμός άρθρου Cytion 820400a)

Supplements Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.

Fluid renewal Κάθε 3 έως 5 ημέρες

Κύτταρα HROC348Met | 300871**Freeze medium**

Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα $300 \times g$ για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Κανένα

Κύτταρα HROC348Met | 300871

Freezing Procedure

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196°C . Η αποθήκευση στους -80°C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

Sterility

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.