

HROC348Met rakud | 300871

Üldine teave

Description

HROC348Met on inimese kolorektaalse kartsinoomi rakuliin, mis on loodud HROC (Hansestadt Rostock Colorectal Cancer) mudelikogust pärit täiskasvanud patsiendilt resekteeritud kolorektaalse adenokartsinoomi metakroonilise maksametastaasi alusel. HROC platvorm loodi standardiseeritud biopanga ja kasvajate modelleerimise protsessi kaudu, integreerides kliinilised märkused, molekulaarse iseloomustuse, patsientidelt saadud ksenotransplantaatid (PDX) ja vastavad in vitro kultuurid. HROC348Met esindab ühte metastaatilist mudelit, mis on saadud kirurgiliselt eemaldatud kolorektaalse vähirakust ja loodud madala passaaži tingimustes, et säilitada kasvajaspetsiifilised bioloogilised omadused.

HROC-kogus näitasid metastaatilised proovid – eriti maksa metastaasid – kõrget siirdamise efektiivsust immuunpuudulikkusega hiirtel, kus PDX-i üldine siirdamise määr oli kogu kohordis ligikaudu 68% ja metastaatiliste kasvajate puhul oli edukus isegi suurem kui primaarse kasvaja puhul. Mitmemõõtmelised analüüsid tuvastasid lümfisõlmede kaasatuse ja KRAS-i ja BRAF-i aktiveerivad mutatsioonid kui sõltumatud ennustavad tegurid mudeli edukaks loomiseks. Kogum hõlmab kõiki kolorektaalse kartsinoomi peamisi molekulaarseid alatüüpe, sealhulgas kromosoomide ebastabiilsust (CIN), CpG-saarte metülatsioonifenotüüpi (CIMP), mikrosatelliitide stabiilsust (MSS) ja mikrosatelliitide kõrget ebastabiilsust (MSI-H) iseloomustavaid kasvajaid, tagades molekulaarse representatiivsuse haiguse edasijõudnud staadiumis. HROC348Met loodi selle rangelt iseloomustatud raamistiku piires, kliinilis-patoloogiliste ja molekulaarsete märkustega vastavalt standardiseeritud protokollidele.

Metastaasidest pärineva, madala passaažiga kolorektaalse kartsinoomi mudelina sobib HROC348Met metastaatilise kasvaja bioloogia, genotüübi-fenotüübi korrelatsioonide ja ravivastuse testimise uurimiseks nii 2D-kultuuris kui ka in vivo PDX-keskkonnas. Selle loomise aluseks olev integreeritud biopanga lähenemine tagab sobivate kliiniliste andmete ja vajaduse korral vastava ksenotransplantaadi materjali kättesaadavuse, võimaldades teha translatsioonilisi uuringuid täppisonkoloogias ja ravimivastuse prognoosimisel.

Organism Inimene

Tissue Maksa metastaasid

Disease Adenokartsinoom

Metastatic site Maksa

Omadused

Age 77 aastat

Gender Mees

Ethnicity Kaukaasia

HROC348Met rakud | 300871

Growth properties Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation HROC348Met (Cytioni katalooginumber 300871)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_1U99

Biomolekulaarsed andmed

MSI-status MSS

Töötlemine

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glükoosi, w: 2,5 mM L-glutamiini, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM naatriumpüruvaati, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (Cytioni artikli number 820400a)

Supplements Täiendada söötme 10% FBS-ga

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Eemaldage kleepunud rakkudelt vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.

Fluid renewal Iga 3 kuni 5 päeva tagant

Freeze medium Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

HROC348Met rakud | 300871

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Optimaalse kinnitumise ja elujõulisuse tagamiseks pärast sulatamist soovitame kasutada **kollageeniga kaetud koldeid või plaate**.

Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

HROC348Met rakud | 300871

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.