

HROC348Met-solut | 300871

Yleisiä tietoja

Description

HROC348Met on ihmisen kolorektaalisyövän solulinja, joka on perustettu HROC (Hansestadt Rostock Colorectal Cancer) -mallikokoelman aikuispotilaalta resektoidun kolorektaalisien adenokarsinooman metakronisesta maksametastaasista. HROC-alusta on luotu standardoidun biopankin ja tuumorimallinnuksen prosessin avulla, jossa on integroitu kliiniset merkinnät, molekyylien karakterisointi, potilaista peräisin olevat ksenotransplantaatit (PDX) ja vastaavat in vitro -viljelmät. HROC348Met edustaa yhtä kirurgisesti resektoidusta kolorektaalisesta syöpäkudoksesta peräisin olevista metastaattisista malleista, ja se on perustettu matalan passageluvun olosuhteissa tuumorikohtaisten biologisten ominaisuuksien säilyttämiseksi.

HROC-kokoelmassa metastaattiset näytteet – erityisesti maksametastaasit – osoittivat korkean kiinnittymistehokkuuden immuunipuutteisissa hiirissä, ja PDX:n kokonaiskiinnittymisaste oli noin 68 % koko kohortissa. Metastaattisten kasvainten kiinnittymisaste oli jopa korkeampi kuin primaarikasvainten. Monimuuttuja-analyysit tunnistivat imusolmukkeiden leviämisen ja KRAS- ja BRAF-geenin aktivoivat mutaatiot itsenäisiksi ennustajiksi mallin onnistuneelle perustamiselle. Kokoelma kattaa kaikki kolorektaalisyövän tärkeimmät molekyylytyypit, mukaan lukien kromosomien epävakaus (CIN), CpG-saarekkeen metyloitfenotyypin (CIMP), mikrosatelliittivakaa (MSS) ja mikrosatelliittien epävakaus (MSI-H) -kasvaimet, mikä takaa edistyneen vaiheen taudin molekyyllisen edustavuuden. HROC348Met perustettiin tämän tarkasti karakterisoidun kehysten sisällä, ja sen kliinispatologiset ja molekyylliset merkinnät tehtiin standardoitujen protokollien mukaisesti.

Metastaasista peräisin olevana, matalan passageluvun kolorektaalisena karsinoomamallina HROC348Met sopii metastaattisen kasvaimen biologian, genotyypin ja fenotyypin välisten korrelaatioiden sekä terapeutin vasteen testaamiseen sekä 2D-viljelmissä että in vivo PDX-olosuhteissa. Sen luomisen taustalla oleva integroitu biopankkimalli varmistaa vastaavien kliinisten tietojen ja, soveltuvin osin, vastaavan ksenotransplantaattimateriaalin saatavuuden, mikä mahdollistaa translaationaaliset tutkimukset täsmäonkologiassa ja lääkevasteen ennustamisessa.

Organism Ihminen

Tissue Maksan etäpesäke

Disease Adenokarsinooma

Metastatic site Maksa

Ominaisuudet

Age 77 vuotta

Gender Mies

Ethnicity Kaukasialainen

HROC348Met-solut | 300871

Growth properties Tarttuva

Säätelytiedot

Citation HROC348Met (Cytionin luettelonumero 300871)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_1U99

Biomolekyylitiedot

MSI-status MSS

Käsittely

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glukoosia, w: 2,5 mM L-glutamiinia, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natriumpyruvaattia, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (Cytionin artikkelinumero 820400a)

Supplements Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.

Fluid renewal 3-5 päivän välein

Freeze medium Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

HROC348Met-solut | 300871

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Optimaalisen kiinnittymisen ja elinkelpoisuuden saavuttamiseksi sulatuksen jälkeen suosittelemme **kollageenipinnoitettujen pullojen tai levyjen** käyttöä.

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

HROC348Met-solut | 300871

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäissä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Storage Conditions

Pitkäaikaisäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.