

Cellules HROC348Met | 300871

Informations générales

Description

HROC348Met est une lignée cellulaire humaine de carcinome colorectal établie à partir d'une métastase hépatique métachrone d'un adénocarcinome colorectal réséqué chez un patient adulte dans le cadre de la collection de modèles HROC (Hansestadt Rostock Colorectal Cancer). La plateforme HROC a été créée grâce à un pipeline standardisé de biobanque et de modélisation tumorale intégrant des annotations cliniques, une caractérisation moléculaire, des xénogreffes dérivées de patients (PDX) et des cultures in vitro correspondantes. HROC348Met représente l'un des modèles métastatiques dérivés de tissus cancéreux colorectaux réséqués chirurgicalement et a été établi dans des conditions de faible passage afin de préserver les caractéristiques biologiques spécifiques à la tumeur.

Au sein de la collection HROC, les échantillons métastatiques - en particulier les métastases hépatiques - ont démontré une efficacité de greffe élevée chez les souris immunodéficientes, avec un taux global de prise de PDX d'environ 68 % dans la cohorte, et un succès encore plus élevé pour les tumeurs métastatiques que pour les tumeurs primaires. Des analyses multivariées ont identifié l'atteinte ganglionnaire et les mutations activatrices dans KRAS et BRAF comme des prédicteurs indépendants de la réussite de l'établissement du modèle. La collection englobe tous les principaux sous-types moléculaires du carcinome colorectal, y compris l'instabilité chromosomique (CIN), le phénotype méthylateur des îlots CpG (CIMP), les tumeurs microsatellites stables (MSS) et les tumeurs à instabilité microsatellites élevée (MSI-H), garantissant ainsi la représentativité moléculaire de la maladie à un stade avancé. HROC348Met a été établi dans ce cadre rigoureusement caractérisé, avec une annotation clinicopathologique et moléculaire conforme à des protocoles standardisés.

En tant que modèle de carcinome colorectal dérivé de métastases et à faible passage, HROC348Met est adapté à l'étude de la biologie des tumeurs métastatiques, des corrélations génotype-phénotype et des tests de réponse thérapeutique dans des conditions de culture 2D et de PDX in vivo. L'approche intégrée de biobanque qui soutient sa création garantit la disponibilité de données cliniques correspondantes et, le cas échéant, de matériel de xénogreffe correspondant, permettant ainsi des études translationnelles en oncologie de précision et la prédiction de la réponse aux médicaments.

Organism Humain

Tissue Métastases hépatiques

Disease Adénocarcinome

Metastatic site Foie

Caractéristiques

Age 77 ans

Gender Homme

Ethnicity Caucasien

Cellules HROC348Met | 300871

Growth properties Adhérent

Données réglementaires

Citation HROC348Met (numéro de catalogue Cytion 300871)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_1U99

Depositor M. Linnebacher

Données biomoléculaires

MSI-status MSS

Manipulation

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w : 3.1 g/L Glucose, w : 2.5 mM L-Glutamine, w : 15 mM HEPES, w : 0.5 mM Sodium pyruvate, w : 1.2 g/L NaHCO₃ (numéro d'article Cytion 820400a)

Supplements Compléter le milieu avec 10% de FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Retirer l'ancien milieu des cellules adhérentes et les laver avec du PBS dépourvu de calcium et de magnésium. Pour les flacons T25, utiliser 3-5 ml de PBS, et pour les flacons T75, 5-10 ml. Ensuite, recouvrir complètement les cellules avec Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laisser les cellules incuber à température ambiante pendant 8-10 minutes pour les détacher. Après incubation, mélanger délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifuger à 300xg pendant 3 minutes. Jeter le surnageant, remettre les cellules en suspension dans du milieu frais et les transférer dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.

Fluid renewal Tous les 3 à 5 jours

Cellules HROC348Met | 300871

Freeze medium

Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (comprenant du FBS) + 10 % de DMSO pour une viabilité adéquate après décongélation, ou CM-1 (numéro de catalogue 800100 de Cytion), qui comprend des osmoprotectants et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryogénéisation.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.
4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules et jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre doucement en suspension le culot cellulaire dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension entre deux flacons de culture T25 ; pour les cultures en suspension, transférer tout le milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance efficaces des cellules.
8. Respecter les protocoles de sous-culture établis pour une croissance et un entretien continus de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%_{CO2}, atmosphère humidifiée.

Flask Coating

Pour une fixation et une viabilité optimales après décongélation, nous recommandons d'utiliser des **flacons ou des plaques recouverts de collagène**.

Cellules HROC348Met | 300871

Freezing Procedure

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle de qualité / Profil génétique / HLA

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes basées sur la luminescence.

Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.

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