

HROC348Met sejtek | 300871

Általános információk

Description

A HROC348Met egy humán kolorektális karcinóma sejtvonala, amelyet a HROC (Hansestadt Rostock Colorectal Cancer) modellgyűjteményben egy felnőtt betegől eltávolított kolorektális adenokarcinóma metakronikus májmetasztázisából hoztak létre. A HROC platformot egy szabványosított biobanki és tumor-modellelési folyamat során hozták létre, amely integrálja a klinikai annotációt, a molekuláris jellemzést, a betegektől származó xenotranszplantátumokat (PDX) és a megfelelő in vitro tenyészeteket. A HROC348Met a sebészi úton eltávolított kolorektális rákos szövetből származó metasztatikus modellek egyikét képviseli, és alacsony passzálási feltételek mellett hozták létre a tumor-specifikus biológiai jellemzők megőrzése érdekében.

A HROC gyűjteményben a metasztatikus minták – különösen a májmetasztázisok – magas beültetési hatékonyságot mutattak immunhiányos egerekben, a kohortban megközelítőleg 68%-os PDX-beültetési aránnyal, és a metasztatikus tumorok esetében még nagyobb sikerrel, mint az elsődleges tumorok esetében. A többváltozós elemzések a nyirokcsomó-bevonást és a KRAS és BRAF aktiváló mutációit azonosították a sikeres modell létrehozásának független előrejelzőiként. A gyűjtemény a kolorektális karcinóma összes főbb molekuláris altípusát magában foglalja, beleértve a kromoszómális instabilitást (CIN), a CpG-sziget metiláló fenotípust (CIMP), a mikroszatellit stabil (MSS) és a mikroszatellit instabilitás magas (MSI-H) tumorokat, biztosítva a fejlett stádiumú betegség molekuláris reprezentativitását. A HROC348Met-et ebben a szigorúan jellemzett keretrendszerben hozták létre, standardizált protokollok szerinti klinikai-patológiai és molekuláris annotációval.

Mint metasztázisból származó, alacsony passzálású kolorektális karcinóma modell, a HROC348Met alkalmas metasztatikus tumorbiológia, genotípus-fenotípus korrelációk és terápiás válasz tesztelésére mind 2D kultúrában, mind in vivo PDX környezetben. A létrehozását alátámasztó integrált biobank megközelítés biztosítja a megfelelő klinikai adatok és, adott esetben, a megfelelő xenograft anyagok rendelkezésre állását, lehetővé téve a transzlációs tanulmányokat a precíziós onkológiában és a gyógyszerre adott válasz előrejelzésében.

Organism Emberi

Tissue Máj metasztázis

Disease Adenokarcinóma

Metastatic site Máj

Jellemzők

Age 77 év

Gender Férfi

Ethnicity Kaukázusi

HROC348Met sejtek | 300871

Growth properties Adherent

Szabályozási adatok

Citation HROC348Met (Cytion katalógusszám 300871)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_1U99

Biomolekuláris adatok

MSI-status MSS

A kezelése

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glükóz, w: 2,5 mM L-Glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM nátrium-piruvát, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (Cytion 820400a cikkszám)

Supplements A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.

Fluid renewal 3-5 naponta

Freeze medium Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krioindukált stressz csökkentése érdekében.

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

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150 °C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37 °C -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a krioüklét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C , 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

A felolvasztás utáni optimális kötődés és életképesség érdekében **kollagénnel bevont lombikok vagy lemezek** használatát javasoljuk.

**Freezing
Procedure**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

HROC348Met sejtek | 300871

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejtvonalatokat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C -on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.