

HROC348Met ląstelės | 300871

Bendra informacija

Description

HROC348Met yra žmogaus kolorektalinės karcinomos ląstelių linija, sukurta iš metachroninės kepenų metastazės, paimtos iš suaugusio paciento, kuriam buvo pašalinta kolorektalinė adenokarcinoma, iš HROC (Hansestadt Rostock Colorectal Cancer) modelių kolekcijos. HROC platforma buvo sukurta naudojant standartizuotą biologinių bankų ir navikų modeliavimo sistemą, integruojančią klinikines anotacijas, molekulinę charakteristiką, pacientų ksenotransplantatus (PDX) ir atitinkamas in vitro kultūras. HROC348Met yra vienas iš metastazinių modelių, gautų iš chirurginiu būdu pašalinto kolorektalinio vėžio audinio, ir buvo sukurtas mažo praėjimo sąlygomis, siekiant išsaugoti navikui būdingas biologines savybes.

HROC kolekcijoje metastaziniai mėginiai, ypač kepenų metastazės, parodė aukštą implantacijos efektyvumą imunodeficitu sergantiems pelėms, o bendras PDX priėmimo rodiklis visoje kohortoje buvo apie 68 %, o metastaziniai navikai buvo sėkmingesni nei pirminiai navikai. Daugiakriterinė analizė nustatė, kad limfmazgių pažeidimas ir aktyvuojančios mutacijos KRAS ir BRAF yra nepriklausomi sėkmingo modelio sukūrimo prognozės rodikliai. Kolekcija apima visus pagrindinius kolorektalinio karcinomo molekulines tipus, įskaitant chromosomų nestabilumą (CIN), CpG salos metilatoriaus fenotipą (CIMP), mikrosatelitų stabilumą (MSS) ir mikrosatelitų nestabilumą (MSI-H), užtikrinant molekulinį ligos pažengusios stadijos reprezentatyvumą. HROC348Met buvo sukurtas pagal šį griežtai apibrėžtą sistemą, taikant standartizuotus protokolus klinikopatologiniams ir molekuliniams anotacijoms.

Kaip metastazių kilmės, mažo praėjimo kolorektalinės karcinomos modelis, HROC348Met tinka metastazinių navikų biologijos, genotipo ir fenotipo korelacijų bei terapinio atsako tyrimams tiek 2D kultūroje, tiek in vivo PDX sąlygomis. Integruotas biobanko metodas, kuriuo grindžiamas jo sukūrimas, užtikrina atitinkamų klinikinių duomenų ir, jei taikoma, atitinkamos ksenotransplantacijos medžiagos prieinamumą, leidžiantį atlikti translacinius tyrimus tikslojoje onkologijoje ir vaistų atsako prognozavime.

Organism Žmogus

Tissue Kepenų metastazės

Disease Adenokarcinoma

Metastatic site Kepenys

Charakteristikos

Age 77 metai

Gender Vyras

Ethnicity Kaukaziečių

Growth properties Prigludęs

HROC348Met ląstelės | 300871

Reguliavimo duomenys

Citation	HROC348Met (Cytion katalogo numeris 300871)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1U99

Biomolekuliniai duomenys

MSI-status	MSS
-------------------	-----

Tvarkymas

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l gliukozės, w: 2,5 mM L-glutamino, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natrio piruvato, w: 1,2 g/l NaHCO ₃ (Cytion gaminio numeris 820400a)
Supplements	Papildykite terpę 10 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkeltkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.
Fluid renewal	Kas 3-5 dienas
Freeze medium	Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

HROC348Met ląstelės | 300871

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Nėra

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

HROC348Met ląstelės | 300871

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.