

HROC348Met šūnas | 300871

Vispārīga informācija

Description

HROC348Met ir cilvēka kolorektālā karcinoma šūnu līnija, kas izveidota no metahronas aknu metastāzes kolorektālās adenokarcinomas, kas izgriezta pieaugušam pacientam HROC (Hansestadt Rostock Colorectal Cancer) modeļu kolekcijā. HROC platforma tika izveidota, izmantojot standartizētu biobanku un audzēju modelēšanas procesu, kas apvieno klīniskās anotācijas, molekulāro raksturojumu, no pacientiem iegūtos ksenotransplantātus (PDX) un atbilstošas in vitro kultūras. HROC348Met ir viens no metastātiskajiem modeļiem, kas iegūts no ķirurģiski izgriezta kolorektālā vēža audu, un tas tika izveidots zemas pasāžas apstākļos, lai saglabātu audzējam raksturīgās bioloģiskās īpašības.

HROC kolekcijā metastātiskie paraugi — īpaši aknu metastāzes — demonstrēja augstu implantācijas efektivitāti imūndeficītiem pelēm, ar kopējo PDX uzņemšanas rādītāju aptuveni 68 % visā kohortā un pat vēl augstāku panākumu metastātiskajiem audzējiem salīdzinājumā ar primārajiem audzējiem. Daudzfaktoru analīzes identificēja limfmezglu iesaistīšanos un aktivējošas mutācijas KRAS un BRAF kā neatkarīgus veiksmīgas modeļa izveides prognozes rādītājus. Kolekcija ietver visus galvenos kolorektālā karcinoma molekulāros apakštipus, tostarp hromosomu nestabilitāti (CIN), CpG salu metilatoru fenotipu (CIMP), mikrosatelītu stabilitāti (MSS) un mikrosatelītu nestabilitāti (MSI-H), nodrošinot molekulāro reprezentativitāti slimības progresējošā stadijā. HROC348Met tika izveidots šajā stingri raksturotajā sistēmā, ar klīnikopatoloģiskām un molekulārām anotācijām saskaņā ar standartizētiem protokoliem.

Kā metastāžu izcelsmes, zemas pasāžas kolorektālā karcinoma modelis, HROC348Met ir piemērots metastātisko audzēju bioloģijas, genotipa-fenotipa korelāciju un terapeitiskās reakcijas testēšanai gan 2D kultūrā, gan in vivo PDX vidē. Integrētā biobankas pieeja, kas ir tā izveides pamatā, nodrošina atbilstošu klīnisko datu pieejamību un, ja nepieciešams, atbilstošu ksenotransplantātu materiālu, ļaujot veikt translacionālus pētījumus precīzās onkoloģijas un zāļu reakcijas prognozēšanas jomā.

Organism

Cilvēks

Tissue

Aknu metastāzes

Disease

Adenokarcinoma

Metastatic site

Aknas

Raksturojums

Age

77 gadi

Gender

Vīrieši

Ethnicity

Kaukāzietis

Growth properties

Adherent

HROC348Met šūnas | 300871

Normatīvie dati

Citation	HROC348Met (Cytion kataloga numurs 300871)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1U99

Biomolekulārie dati

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

Darbs ar

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glikozes, w: 2,5 mM L-glutamīna, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM nātrija piruvāta, w: 1,2 g/l NaHCO ₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820400a)
Supplements	Papildināt barotni ar 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.
Fluid renewal	Ik pēc 3 līdz 5 dienām
Freeze medium	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

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

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Neviens

**Freezing
Procedure**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

HROC348Met šūnas | 300871

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.