

HROC348Met cellen | 300871

Algemene informatie

Description

HROC348Met is een menselijke colorectale carcinoomcellijn die is opgericht op basis van een metachrone levermetastase van een colorectaal adenocarcinoom dat is verwijderd bij een volwassen patiënt binnen de HROC-modelcollectie (Hansestadt Rostock Colorectal Cancer). Het HROC-platform is tot stand gekomen door middel van een gestandaardiseerde biobanking- en tumormodelleringspijplijn waarin klinische annotatie, moleculaire karakterisering, van patiënten afkomstige xenotransplantaten (PDX) en bijbehorende in-vitro-culturen zijn geïntegreerd. HROC348Met vertegenwoordigt een van de metastatische modellen die zijn afgeleid van chirurgisch verwijderd colorectaal kankerweefsel en is opgezet onder low-passage-omstandigheden om tumorspecifieke biologische kenmerken te behouden.

Binnen de HROC-collectie vertoonden metastatische specimens – met name levermetastasen – een hoge engraftment-efficiëntie in immuundeficiënte muizen, met een totale PDX-take-rate van ongeveer 68% in het cohort, en een nog hoger succespercentage voor metastatische tumoren in vergelijking met primaire tumoren. Multivariate analyses identificeerden lymfeklierbetrokkenheid en activerende mutaties in KRAS en BRAF als onafhankelijke voorspellers voor een succesvolle modeloprichting. De collectie omvat alle belangrijke moleculaire subtypes van colorectaal carcinoom, waaronder chromosomale instabiliteit (CIN), CpG-eilandmethylatiefenotype (CIMP), microsatellietstabiele (MSS) en microsatellietinstabiliteit-hoge (MSI-H) tumoren, waardoor de moleculaire representativiteit van gevorderde stadia van de ziekte wordt gewaarborgd. HROC348Met werd opgezet binnen dit streng gekarakteriseerde kader, met klinisch-pathologische en moleculaire annotatie volgens gestandaardiseerde protocollen.

Als een van metastase afgeleid, laag-passage colorectaal carcinoommodel is HROC348Met geschikt voor onderzoek naar de biologie van gemetastaseerde tumoren, genotype-fenotype correlaties en het testen van therapeutische respons in zowel 2D-cultuur als in vivo PDX-omgevingen. De geïntegreerde biobankbenadering die ten grondslag ligt aan de ontwikkeling ervan, garandeert de beschikbaarheid van bijpassende klinische gegevens en, indien van toepassing, overeenkomstig xenotransplantaatmateriaal, waardoor translationeel onderzoek in precisie-oncologie en voorspelling van de respons op geneesmiddelen mogelijk wordt.

Organism	Mens
Tissue	Levermetastase
Disease	Adenocarcinoom
Metastatic site	Lever

Kenmerken

Age	77 jaar
Gender	Mannelijk
Ethnicity	Kaukasisch

HROC348Met cellen | 300871

Growth properties Aanhangend

Regelgevende gegevens

Citation HROC348Met (Cytion catalogusnummer 300871)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_1U99

Depositor M. Linnebacher

Biomoleculaire gegevens

MSI-status MSS

Omgaan met

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 Natriumpyruvaat, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820400a)

Supplements Vul het medium aan met 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenden en vervolgens centrifugerend bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.

Fluid renewal Om de 3 tot 5 dagen

Freeze medium Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedum (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

HROC348Met cellen | 300871

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij $300 \times g$ om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Geen

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

HROC348Met cellen | 300871

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.

STR profiel

Amelogenin: x,y
CSF1PO: 8.3,9.3
D13S317: 12
D5S818: 11,12
TH01: 8.3
TPOX: 7.3,8.3
vWA: 18.1