

HROC348Met-celler | 300871

Generell informasjon

Description

HROC348Met er en humant kolorektal karsinomcellelinje etablert fra en metakron levermetastase av et kolorektalt adenokarsinom resektert fra en voksen pasient i HROC-modellsamlingen (Hansestadt Rostock Colorectal Cancer). HROC-plattformen ble generert gjennom en standardisert biobank- og tumormodelleringsprosess som integrerer klinisk annotering, molekylær karakterisering, pasientavlede xenotransplantater (PDX) og tilsvarende in vitro-kulturer. HROC348Met representerer en av de metastatiske modellene avledet fra kirurgisk resektert kolorektal kreftvev og ble etablert under lavpassasjeforhold for å bevare tumorspesifikke biologiske egenskaper.

Innenfor HROC-samlingen viste metastatiske prøver – spesielt levermetastaser – høy engraftment-effektivitet i immunsvake mus, med en samlet PDX-take rate på omtrent 68 % i hele kohorten, og enda høyere suksess for metastatiske svulster sammenlignet med primære svulster. Multivariate analyser identifiserte nodal involvering og aktiverende mutasjoner i KRAS og BRAF som uavhengige prediktorer for vellykket modelletablering. Samlingen omfatter alle viktige molekylære subtyper av kolorektal karsinom, inkludert kromosomalt ustabilitet (CIN), CpG-øy-metylatorfenotype (CIMP), mikrosatellittstabil (MSS) og mikrosatellittustabilitet-høy (MSI-H) svulster, noe som sikrer molekylær representativitet for sykdom i avansert stadium. HROC348Met ble etablert innenfor dette strengt karakteriserte rammeverket, med klinisk-patologisk og molekylær annotering i henhold til standardiserte protokoller.

Som en metastaserivert kolorektal karsinom-modell med lav passasje er HROC348Met egnet for undersøkelser av metastatisk tumorbiologi, genotype-fenotype-korrelasjoner og terapeutisk respons-testing både i 2D-kultur og in vivo PDX-miljøer. Den integrerte biobank-tilnærmingen som ligger til grunn for genereringen, sikrer tilgjengeligheten av matchede kliniske data og, hvor det er aktuelt, tilsvarende xenotransplantatmateriale, noe som muliggjør translasjonsstudier innen presisjonsonkologi og prediksjon av respons på legemidler.

Organism Menneskelig

Tissue Levermetastaser

Disease Adenokarsinom

Metastatic site Lever

Kjennetegn

Age 77 år

Gender Mann

Ethnicity Kaukasisk

HROC348Met-celler | 300871

Growth properties Vedhengende

Regulatoriske data

Citation HROC348Met (Cytion-katalognummer 300871)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_1U99

Depositor M. Linnebacher

Biomolekylære data

MSI-status MSS

Håndtering

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glukose, w: 2,5 mM L-glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natriumpyruvat, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (Cytion artikkelnummer 820400a)

Supplements Suppler mediet med 10 % FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspend cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.

Fluid renewal Hver 3. til 5. dag

Freeze medium Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter optining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoinduisert stress.

HROC348Met-celler | 300871

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelleten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

HROC348Met-celler | 300871

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.

STR-profil

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