

**Komórki HROC348Met | 300871****Informacje ogólne****Description**

HROC348Met to ludzka linia komórek raka jelita grubego utworzona z metachronnych przerzutów do wątroby z gruczolaka jelita grubego wyciętego u dorosłego pacjenta w ramach kolekcji modeli HROC (Hansestadt Rostock Colorectal Cancer). Platforma HROC została stworzona w ramach znormalizowanego procesu biobankowania i modelowania nowotworów, integrującego adnotacje kliniczne, charakterystykę molekularną, przeszczepy pochodzące od pacjentów (PDX) oraz odpowiednie hodowle in vitro. HROC348Met stanowi jeden z modeli przerzutowych pochodzących z chirurgicznie usuniętej tkanki raka jelita grubego i został utworzony w warunkach niskiej liczby pasażów w celu zachowania specyficznych dla nowotworu cech biologicznych.

W ramach kolekcji HROC próbki przerzutowe – zwłaszcza przerzuty do wątroby – wykazały wysoką skuteczność wszczepienia u myszy z niedoborem odporności, przy ogólnym wskaźniku przyjęcia PDX wynoszącym około 68% w całej kohorcie, a nawet wyższym wskaźniku powodzenia w przypadku nowotworów przerzutowych w porównaniu z nowotworami pierwotnymi. Analizy wielowymiarowe wykazały, że zajęcie węzłów chłonnych i mutacje aktywujące w genach KRAS i BRAF są niezależnymi czynnikami prognostycznymi powodzenia ustanowienia modelu. Kolekcja obejmuje wszystkie główne podtypy molekularne raka jelita grubego, w tym nowotwory z niestabilnością chromosomową (CIN), fenotyp metylacji wysp CpG (CIMP), stabilne mikrosatelitarne (MSS) i wysokie niestabilności mikrosatelitarne (MSI-H), zapewniając reprezentatywność molekularną choroby w zaawansowanym stadium. Model HROC348Met został opracowany w ramach tych rygorystycznie scharakteryzowanych ram, z adnotacjami kliniczno-patologicznymi i molekularnymi zgodnie ze standardowymi protokołami.

Jako model raka jelita grubego pochodzący z przerzutów i charakteryzujący się niską liczbą pasażów, HROC348Met nadaje się do badań nad biologią nowotworów przerzutowych, korelacjami genotyp-fenotyp oraz testowaniem odpowiedzi terapeutycznej zarówno w hodowli 2D, jak i w warunkach PDX in vivo. Zintegrowane podejście oparte na biobanku, leżące u podstaw jego powstania, zapewnia dostępność dopasowanych danych klinicznych oraz, w stosownych przypadkach, odpowiedniego materiału do przeszczepów heterogenicznych, umożliwiając badania translacyjne w zakresie onkologii precyzyjnej i przewidywania odpowiedzi na leczenie.

**Organism** Człowiek**Tissue** Przerzuty do wątroby**Disease** Gruczolakorak**Metastatic site** Wątroba**Charakterystyka****Age** 77 lat**Gender** Mężczyzna**Ethnicity** Kaukaski

**Komórki HROC348Met | 300871**

**Growth properties** Adherent

**Dane regulacyjne**

**Citation** HROC348Met (numer katalogowy Cytion 300871)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_1U99

**Depositor** M. Linnebacher

**Dane biomolekularne**

**MSI-status** MSS

**Obsługa**

**Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glukozy, w: 2,5 mM L-glutaminy, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM pirogronianu sodu, w: 1,2 g/l NaHCO<sub>3</sub> (numer artykułu Cytion 820400a)

**Supplements** Uzupetnić podłoże 10% FBS

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.

**Fluid renewal** Co 3 do 5 dni

**Freeze medium** Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

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

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej  $-150^{\circ}\text{C}$ , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze  $37^{\circ}\text{C}$  z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością  $300 \times g$  przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

**Incubation  
Atmosphere**

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , nawilżona atmosfera.

**Flask Coating**

Brak

**Freezing  
Procedure**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około  $-78^{\circ}\text{C}$  przez czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

## Komórki HROC348Met | 300871

### Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

### Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

## Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

### Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

### Profil STR

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