

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 NaHCO₃ (numer artykułu Cytion 820400a)

Supplements Uzuppełnić 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°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°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°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

W celu zapewnienia optymalnego przylegania i żywotności po rozmrożeniu zalecamy stosowanie **kolb lub płytek pokrytych kolagenem**.

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°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolkę 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