

**Bunky HROC348Met | 300871****Všeobecné informácie****Description**

HROC348Met je ľudská bunka kolorektálneho karcinómu, ktorá bola vytvorená z metachrónej metastázy pečene kolorektálneho adenokarcinómu odstráneného z dospelého pacienta v rámci modelovej kolekcie HROC (Hansestadt Rostock Colorectal Cancer). Platforma HROC bola vytvorená prostredníctvom štandardizovaného biobankingu a modelovania nádorov, ktoré integruje klinické anotácie, molekulárnu charakterizáciu, xenotransplantáty od pacientov (PDX) a zodpovedajúce in vitro kultúry. HROC348Met predstavuje jeden z metastatických modelov odvodených z chirurgicky resektovaného tkaniva kolorektálneho karcinómu a bol vytvorený za podmienok s nízkym počtom pasáží, aby sa zachovali biologické vlastnosti špecifické pre nádor.

V rámci kolekcie HROC vykazovali metastatické vzorky – najmä metastázy v pečeni – vysokú účinnosť prihojenia u imunodeficientných myší, s celkovou mierou prijatia PDX približne 68 % v celej kohorte a ešte vyššou úspešnosťou u metastatických nádorov v porovnaní s primárnymi nádormi. Multivariačné analýzy identifikovali postihnutie uzlín a aktivujúce mutácie v génoch KRAS a BRAF ako nezávislé prediktory úspešného vytvorenia modelu. Kolekcia zahŕňa všetky hlavné molekulárne podtypy kolorektálneho karcinómu, vrátane chromozómovej nestability (CIN), fenotypu metylátora CpG ostrova (CIMP), mikrosatelitovej stability (MSS) a mikrosatelitovej nestability s vysokou mierou (MSI-H), čím sa zabezpečuje molekulárna reprezentatívnosť ochorenia v pokročilom štádiu. HROC348Met bol vytvorený v rámci tohto prísne charakterizovaného rámca s klinickopatologickými a molekulárnymi poznámkami podľa štandardizovaných protokolov.

Ako model kolorektálneho karcinómu s nízkym počtom pasáží odvodený z metastáz, HROC348Met je vhodný na výskum biológie metastatických nádorov, korelácií genotypu a fenotypu a testovanie terapeutickje odpovede v 2D kultúre aj v in vivo PDX prostredí. Integrovaný prístup biobanky, na ktorom je založené jeho vytvorenie, zabezpečuje dostupnosť zodpovedajúcich klinických údajov a, ak je to vhodné, zodpovedajúceho xenotransplantačného materiálu, čo umožňuje translačné štúdie v presnej onkológii a predikciu odpovede na liečbu.

**Organism** Ľudské**Tissue** Metastázy v pečeni**Disease** Adenokarcinóm**Metastatic site** Pečeň**Charakteristika****Age** 77 rokov**Gender** Muži**Ethnicity** Kaukazský

**Bunky HROC348Met | 300871**

**Growth properties** Adherent

**Regulačné údaje**

**Citation** HROC348Met (katalógové číslo Cytion 300871)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_1U99

**Biomolekulárne údaje**

**MSI-status** MSS

**Spracovanie**

**Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glukózy, w: 2,5 mM L-glutamínu, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM pyruvátu sodného, w: 1,2 g/l NaHCO<sub>3</sub> (číslo výrobku Cytion 820400a)

**Supplements** Doplníte médium o 10 % FBS

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredíte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.

**Fluid renewal** Každých 3 až 5 dní

**Freeze medium** Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

## Bunky HROC348Met | 300871

### Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri  $300 \times g$  počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , zvlhčená atmosféra.

### Flask Coating

Na dosiahnutie optimálneho uchytenia a životaschopnosti po rozmrazení odporúčame používať **banky alebo platne s kolagénom**.

### Freezing Procedure

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

## Bunky HROC348Met | 300871

### Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

### Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

## Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

### Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.