

HROC348Met celice | 300871

Splošne informacije

Description

HROC348Met je človeška celica kolorektalnega karcinoma, vzpostavljena iz metakronne metastaze jeter kolorektalnega adenokarcinoma, odstranjenega iz odraslega pacienta v okviru zbirke modelov HROC (Hansestadt Rostock Colorectal Cancer). Platforma HROC je bila ustvarjena s standardiziranim postopkom biobanke in modeliranja tumorjev, ki združuje klinične opombe, molekularno karakterizacijo, ksenotransplante, pridobljene od bolnikov (PDX), in ustrezne in vitro kulture. HROC348Met predstavlja enega od metastatskih modelov, pridobljenih iz kirurško odstranjenega tkiva kolorektalnega raka, in je bil vzpostavljen v pogojih z nizkim številom prehodov, da se ohranijo tumorspecifične biološke lastnosti.

V zbirki HROC so metastatski vzorci – zlasti metastaze v jetrih – pokazali visoko učinkovitost pri imunodeficientnih miših, s skupno stopnjo uspešnosti PDX približno 68 % v celotni kohorti in še višjo stopnjo uspešnosti za metastatske tumorje v primerjavi s primarnimi tumorji. Multivariatne analize so identificirale vpletenost bezgavk in aktivirajoče mutacije v KRAS in BRAF kot neodvisne napovednike uspešne vzpostavitve modela. Zbirka obsega vse glavne molekularne podtipke kolorektalnega karcinoma, vključno s kromosomsko nestabilnostjo (CIN), fenotipom metilatorja CpG otoka (CIMP), mikrosatelitsko stabilnimi (MSS) in mikrosatelitsko nestabilnimi (MSI-H) tumorji, kar zagotavlja molekularno reprezentativnost bolezni v naprednem stadiju. HROC348Met je bil vzpostavljen v tem strogo opredeljenem okviru, s kliničnopatološkimi in molekularnimi opombami v skladu s standardiziranimi protokoli.

Kot model kolorektalnega karcinoma z nizkim številom prehodov, pridobljen iz metastaz, je HROC348Met primeren za raziskave biologije metastatskih tumorjev, korelacij genotipa in fenotipa ter testiranja terapevtskega odziva v 2D kulturi in in vivo PDX okolju. Integriran pristop biobanke, na katerem temelji njegova ustvaritev, zagotavlja razpoložljivost ustreznih kliničnih podatkov in, kjer je to primerno, ustreznega materiala za ksenotransplantacijo, kar omogoča translacijske študije v precizni onkologiji in napovedovanje odziva na zdravlila.

Organism Človek

Tissue Jetrne metastaze

Disease Adenokarcinom

Metastatic site Jetra

Značilnosti

Age 77 let

Gender Moški

Ethnicity Kavkaški

HROC348Met celice | 300871

Growth properties Pripadajoče

Regulativni podatki

Citation HROC348Met (katalogška številka Cytion 300871)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_1U99

Biomolekularni podatki

MSI-status MSS

Ravnanje s spletno stranjo

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glukoze, w: 2,5 mM L-glutamina, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natrijevega piruvata, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (številka izdelka Cytion 820400a)

Supplements Gojišče dopolnite z 10 % FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavrzite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.

Fluid renewal Vsakih 3 do 5 dni

Freeze medium Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (katalogška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročenga s kriom.

HROC348Met celice | 300871

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu krioviala takoj shranite pri temperaturi pod $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $300 \times g$ 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Flask Coating

Za optimalno pritrnitev in sposobnost preživetja po odmrznitvi priporočamo uporabo s **kolagenom prevlečenih bučk ali plošč**.

Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

HROC348Met celice | 300871

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78°C . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vialo postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196°C . Shranjevanje pri -80°C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.