

Клетки HROC348 | 300719

Обща информация

Description

HROC348 е човешка клетъчна линия за колоректален карцином, получена от първичен тумор, изрязан от възрастен пациент от мъжки пол, диагностициран с рак на сигмовидното черво. Туморът е класифициран като умерено напреднал аденокарцином (T3, G3, N2), което показва значителна локална инвазия и засягане на лимфни възли, съответстващи на агресивното поведение на тумора. Карциномът произхожда от сигмовидното дебело черво, често срещано анатомично място за спорадичен колоректален рак, и е представен с микросателитна стабилност (MSS), което го причислява към подтипа на хромозомната нестабилност (CIN), а не към класа на MSI-високо хипермутиралите колоректални тумори.

Молекулярното профилиране на HROC348 показва статус на див тип както за KRAS, така и за BRAF, което предполага липса на общи активиращи мутации в тези гени, които често са замесени в прогресията на колоректалния рак и резистентността към терапия. Този молекулярен фон прави HROC348 особено подходящ за проучвания, насочени към немутиралата RAS/RAF сигнализация и нейното влияние върху туморния растеж, терапевтичния отговор и механизмите на резистентност. Клетъчната линия не показва фенотип на метилиране на CpG острови (CIMP), което допълнително подкрепя класифицирането ѝ в рамките на конвенционалната (нехипермутирана) подгрупа на колоректалния рак.

Клинично туморът е положителен за метастази в лимфните възли (LN_pos = 2), но далечни метастази (M) са отбелязани само веднъж и не е регистрирано десностранно засягане на дебелото черво, което съответства на профила на левостранния колоректален рак. Тези характеристики, в съчетание с MSS статуса и молекулярните маркери, позиционират HROC348 като представителен модел за изследване на левостранен, KRAS/BRAF див тип, микросателитно стабилен колоректален аденокарцином. Той също така предлага транслационна стойност за предклинично тестване на таргетни терапии и имуномодулиращи агенти при MSS тумори, които обикновено са по-малко чувствителни към блокада на имунните контролни точки.

Organism Човек

Tissue Сигмоидно дебело черво

Disease Карцином

Характеристики

Age 77 години

Gender Мъжки

Ethnicity Кавказки

Morphology Подобни на епител

Клетки HROC348 | 300719

Growth properties Придържачи се

Регулаторни данни

Citation HROC348 (каталожен номер 300719 на Cytion)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

Биомолекулярни данни

MSI-status MSS

Работа с

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L глюкоза, w: 2,5 mM L-глутамин, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM натриев пируват, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (номер на изделието на Cytion 820400a)

Supplements Допълнете средата с 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.

Fluid renewal 2 до 3 пъти седмично

Freeze medium Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки HROC348 | 300719

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикуробен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

Няма

**Freezing
Procedure**

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки HROC348 | 300719

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196°C . Съхранението при -80°C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.