

HROC348 Buňky | 300719

Obecné informace

Description

HROC348 je buněčná linie lidského kolorektálního karcinomu odvozená z primárního nádoru resekovaného u dospělého muže s diagnózou karcinomu sigmoidea. Nádor byl klasifikován jako středně pokročilý adenokarcinom (T3, G3, N2), což svědčí o významné lokální invazi a postižení lymfatických uzlin, což odpovídá agresivnímu chování nádoru. Karcinom vznikl v sigmoideu, což je časté anatomické místo pro sporadický kolorektální karcinom, a vykazoval mikrosatelitní stabilitu (MSS), což jej řadí spíše k podtypu chromozomální nestability (CIN) než k hypermutované třídě kolorektálních nádorů s vysokým MSI.

Molekulární profilování HROC348 vykazuje divoký typ pro KRAS i BRAF, což naznačuje nepřítomnost běžných aktivačních mutací v těchto genech, které se často podílejí na progresi kolorektálního karcinomu a rezistenci na léčbu. Díky tomuto molekulárnímu pozadí je HROC348 zvláště vhodný pro studie zaměřené na nemutovanou signalizaci RAS/RAF a její důsledky pro růst nádoru, léčebnou odpověď a mechanismy rezistence. Tato buněčná linie nevykazuje fenotyp CpG ostrovního metylátoru (CIMP), což dále podporuje její zařazení do podskupiny konvenčního (nehypermutovaného) kolorektálního karcinomu.

Klinicky byl nádor pozitivní na metastázy v lymfatických uzlinách (LN_pos = 2), ale vzdálené metastázy (M) byly zaznamenány pouze jednou a nebylo zaznamenáno žádné pravostranné postižení tlustého střeva, což odpovídá levostrannému profilu kolorektálního karcinomu. Tyto vlastnosti spolu se stavem MSS a molekulárními markery staví HROC348 do pozice reprezentativního modelu pro studium levostranného, KRAS/BRAF divokého typu, mikrosatelitově stabilního kolorektálního adenokarcinomu. Nabízí také translační hodnotu pro preklinické testování cílených terapií a imunomodulačních látek u nádorů s MSS, které jsou obvykle méně citlivé na blokádu imunitních kontrolních bodů.

Organism Člověk

Tissue Sigmoidní tračník

Disease Karcinom

Charakteristika

Age 77 let

Gender Muži

Ethnicity Kavkazský

Morphology Epitelu podobné

Growth properties Adherentní

Regulační údaje

HROC348 Buňky | 300719

Citation HROC348 (katalogové číslo Cytion 300719)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**Biomolekulární data****MSI-status** MSS**Zpracování****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glukózy, w: 2,5 mM L-Glutaminu, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM pyruvátu sodného, w: 1,2 g/l NaHCO₃ (číslo výrobku Cytion 820400a)**Supplements** Doplněte médium o 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstraňte staré médium z adheovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.**Fluid renewal** 2 až 3krát týdně**Freeze medium** Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryem.

HROC348 Buňky | 300719**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstřeďte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žádný

**Freezing
Procedure**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

**Shipping
Conditions**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

HROC348 Buňky | 300719

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.