

Κύτταρα HROC348 | 300719

Γενικές πληροφορίες

Description

Το HROC348 είναι μια ανθρώπινη κυτταρική σειρά καρκινώματος του παχέος εντέρου που προέρχεται από πρωτογενή όγκο που αφαιρέθηκε από ενήλικα άρρενα ασθενή που διαγνώστηκε με καρκίνο του σιγμοειδούς κόλου. Ο όγκος ταξινομήθηκε ως μέτρια προχωρημένο αδενοκαρκίνωμα (T3, G3, N2), υποδεικνύοντας σημαντική τοπική διείσδυση και συμμετοχή λεμφαδένων, που συνάδει με επιθετική συμπεριφορά του όγκου. Το καρκίνωμα προερχόταν από το σιγμοειδές κόλον, μια κοινή ανατομική θέση για τον σποραδικό καρκίνο του παχέος εντέρου, και παρουσίασε μικροδορυφορική σταθερότητα (MSS), η οποία το ευθυγραμμίζει με τον υποτύπο της χρωμοσωμικής αστάθειας (CIN) και όχι με την κατηγορία των υπερμεταλλαγμένων όγκων του παχέος εντέρου με υψηλό MSI.

Η μοριακή σκιαγράφιση του HROC348 δείχνει κατάσταση άγριου τύπου τόσο για το KRAS όσο και για το BRAF, γεγονός που υποδηλώνει την απουσία κοινών ενεργοποιητικών μεταλλάξεων σε αυτά τα γονίδια που εμπλέκονται συχνά στην εξέλιξη του καρκίνου του παχέος εντέρου και στην αντίσταση στη θεραπεία. Αυτό το μοριακό υπόβαθρο καθιστά το HROC348 ιδιαίτερα κατάλληλο για μελέτες που επικεντρώνονται στη μη μεταλλαγμένη σηματοδότηση RAS/RAF και τις επιπτώσεις της στην ανάπτυξη του όγκου, τη θεραπευτική ανταπόκριση και τους μηχανισμούς αντίστασης. Η κυτταρική σειρά δεν εμφανίζει φαινότυπο μεθυλιωτή νησίδων CpG (CIMP), υποστηρίζοντας περαιτέρω την ταξινόμησή της στην υποομάδα του συμβατικού (μη υπερμεταλλαγμένου) καρκίνου του παχέος εντέρου.

Κλινικά, ο όγκος ήταν θετικός για λεμφαδενική μετάσταση (LN_pos = 2), αλλά απομακρυσμένη μετάσταση (M) σημειώθηκε μόνο μία φορά και δεν καταγράφηκε καμία συμμετοχή του δεξιού κόλου, γεγονός που συνάδει με προφίλ αριστερόπλευρου καρκίνου του παχέος εντέρου. Αυτά τα χαρακτηριστικά, σε συνδυασμό με την κατάσταση MSS και τους μοριακούς δείκτες, τοποθετούν το HROC348 ως αντιπροσωπευτικό μοντέλο για τη μελέτη του αριστερόπλευρου, άγριου τύπου KRAS/BRAF, σταθερού σε μικροδορυφόρους αδενοκαρκινώματος του παχέος εντέρου. Προσφέρει επίσης μεταφραστική αξία για προκλινικές δοκιμές στοχευμένων θεραπειών και ανοσοτροποποιητικών παραγόντων σε όγκους MSS, οι οποίοι συνήθως ανταποκρίνονται λιγότερο στον αποκλεισμό των σημείων ανοσολογικού ελέγχου.

Organism

Ανθρώπινο

Tissue

Σιγμοειδές κόλον

Disease

Καρκίνωμα

Metastatic site

Not reported (primary sigmoid colon adenocarcinoma; no confirmed distant metastasis at time of sampling)

Applications

Colorectal cancer research; KRAS/BRAF wild-type MSS CRC biology; left-sided colorectal cancer modeling; drug sensitivity in non-mutated RAS/RAF tumors; HROC Linnebacher biobank studies; CRC immunotherapy evaluation; preclinical oncology

Χαρακτηριστικά

Age

77 χρόνια

Κύτταρα HROC348 | 300719

Gender	Άντρας
Ethnicity	Καυκάσιος
Morphology	Επιθηλιοειδής
Cell type	Epithelial cells
Growth properties	Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation	HROC348 (αριθμός καταλόγου Cytion 300719)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	Not assigned
GMO Status	No genetic modification; wildtype patient-derived CRC cell line from the HROC Linnebacher biobank. KRAS wild-type, BRAF wild-type, MSS, CIMP-negative.

Βιομοριακά δεδομένα

MSI-status	MSS
-------------------	-----

Χειρισμός

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L γλυκόζη, w: 2,5 mM L-γλουταμίνη, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM πυρουβικό νάτριο, w: 1,2 g/L NaHCO3 (αριθμός άρθρου Cytion 820400a)
Supplements	Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase

Κύτταρα HROC348 | 300719

Subculturing Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.

Fluid renewal 2 έως 3 φορές την εβδομάδα

Freeze medium Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρουοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρουοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

Κύτταρα HROC348 | 300719

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO_2 , υγροποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating Κανένα

Freezing Procedure Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Shipping Conditions Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Storage Conditions Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

Sterility Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.