

HROC348 rakud | 300719

Üldine teave

Description

HROC348 on inimese kolorektaalkartsinoomi rakuliin, mis on saadud täiskasvanud meessoost patsiendilt, kellel on diagnoositud sigmoidne käärsoolevähk, resekteeritud primaarsest kasvajast. Kasvaja klassifitseeriti mõõdukalt kaugelearenenud adenokartsinoomiks (T3, G3, N2), mis viitab märkimisväärsele lokaalsele invasiivsusele ja lümfisõlmede kaasatusele, mis on kooskõlas agressiivse kasvajakäitumisega. Kartsinoom pärines sigmoidse käärsoolest, mis on sporaadilise kolorektaalvähi tavaline anatoomiline paiknemine, ja sellel esines mikrosatelliitide stabiilsus (MSS), mis liigitab selle pigem kromosomaalse ebastabiilsuse (CIN) alatüüpi kui kolorektaalvähi MSI-kõrge hüpermutatsiooniga klassi.

HROC348 molekulaarprofiil näitab nii KRASi kui ka BRAFi metsikut tüüpi olekut, mis viitab sellele, et neis geenides puuduvad ühised aktiveerivad mutatsioonid, mis on sageli seotud kolorektaalvähi progresseerumise ja raviresistentsusega. Selline molekulaarne taust muudab HROC348 eriti sobivaks uuringuteks, mis keskenduvad mutatsioonita RAS/RAF-signalisatsioonile ja selle mõjudele kasvaja kasvule, ravivastusele ja resistentsuse mehhanismidele. Rakuliinil ei esine CpG-saarte metülaatori fenotüüpi (CIMP), mis toetab veelgi selle liigitamist tavapärase (mittehüpermutatsioonilise) kolorektaalvähi alarühma.

Kliiniliselt oli kasvaja positiivne lümfisõlmede metastaaside suhtes (LN_pos = 2), kuid kaugmetastaase (M) täheldati ainult üks kord ja parempoolse käärsoole kaasatust ei täheldatud, mis vastab vasakpoolse kolorektaalvähi profiilile. Need omadused koos MSS-staatuse ja molekulaarsete markeritega asetavad HROC348 representatiivseks mudeliks vasakpoolse KRAS/BRAF-vildtüüpi mikrosatelliitidega stabiilse kolorektaalse adenokartsinoomi uurimiseks. Samuti pakub see translatsioonilist väärtust sihtotstarbeliste ravimeetodite ja immuunsüsteemi moduleerivate ainete prekliiniliseks testimiseks MSS-kasvajate puhul, mis tavaliselt reageerivad immuunsüsteemi kontrollpunkti blokaadile vähem.

Organism Inimene

Tissue Sigmoidne käärsoolestik

Disease Kartsinoom

Omadused

Age 77 aastat

Gender Mees

Ethnicity Kaukaasia

Morphology Epiteelilaadsed

Growth properties Kinnipeetav

HROC348 rakud | 300719

Regulatiivsed andmed

Citation	HROC348 (Cytioni katalooginumber 300719)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606

Biomolekulaarsed andmed

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

Töötlemine

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glükoosi, w: 2,5 mM L-glutamiini, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM naatriumpüruvaati, w: 1,2 g/L NaHCO ₃ (Cytioni artikli number 820400a)
Supplements	Täiendada söötme 10% FBS-ga
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Eemaldage kleepunud rakkudel vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.
Fluid renewal	2 kuni 3 korda nädalas
Freeze medium	Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

HROC348 rakud | 300719

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

HROC348 rakud | 300719

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.