

HROC348 Solut | 300719

Yleisiä tietoja

Description

HROC348 on ihmisen paksusuolen karsinooman solulinja, joka on peräisin primaarikasvaimesta, joka on leikattu aikuiselta miespotilaalta, jolla on diagnosoitu sigmasuolen paksusuolen syöpä. Kasvain luokiteltiin kohtalaisen pitkälle edenneeksi adenokarsinoomaksi (T3, G3, N2), mikä osoittaa merkittävää paikallista invaasiota ja imusolmukkeiden osallistumista, mikä vastaa aggressiivista kasvaimen käyttäytymistä. Karsinooma oli peräisin sigmoidisesta paksusuolesta, joka on sporadisen paksusuolisyövän yleinen anatominen sijaintipaikka, ja siinä esiintyi mikrosatelliittistabiilisuutta (MSS), mikä luokittelee sen pikemminkin kromosomi-instabiiliuden (CIN) alatyyppeihin kuin paksusuolen kasvainten MSI-korkean hypermutatoituneen luokan alatyyppeihin.

HROC348:n molekyyliprofilointi osoittaa, että se on villiä tyyppiä sekä KRAS- että BRAF-geenin osalta, mikä viittaa siihen, että näissä geeneissä ei ole yleisiä aktivoivia mutaatioita, jotka ovat usein osallisina paksusuolen syövän etenemisessä ja hoitoresistenssissä. Tämän molekulaarisen taustan vuoksi HROC348 soveltuu erityisen hyvin tutkimuksiin, joissa keskitytään mutaatioiden ulkopuoliseen RAS/RAF-signalointiin ja sen vaikutuksiin kasvaimen kasvuun, hoitovasteeseen ja resistenssimekanismiin. Solulinjalla ei esiinny CpG-saarekkeiden metylaattorin fenotyyppiä (CIMP), mikä tukee entisestään sen luokittelua tavanomaiseen (ei-hypermutoituneeseen) kolorektaalisyövän alaryhmään.

Kliinisesti kasvain oli positiivinen imusolmukemetastaasien suhteen (LN_pos = 2), mutta etämetastaaseja (M) todettiin vain kerran, eikä oikeanpuoleista paksusuolta todettu, mikä vastaa vasemmanpuoleisen paksusuolen syövän profiilia. Nämä ominaisuudet yhdessä MSS-statuksen ja molekyyliominaisuuksien kanssa tekevät HROC348:sta edustavan mallin vasemmanpuoleisen, KRAS/BRAF-villiintyneen, mikrosatelliittistabiilin kolorektaalisien adenokarsinooman tutkimiseen. Se tarjoaa myös translationaalista arvoa kohdennettujen hoitojen ja immuunijärjestelmää muokkaavien aineiden prekliinisessä testauksessa MSS-kasvaimissa, jotka tyypillisesti reagoivat huonommin immuunijärjestelmän tarkistuspisteiden estoon.

Organism Ihminen

Tissue Sigmoidinen paksusuoli

Disease Syöpä

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

Ominaisuudet

Age 77 vuotta

Gender Mies

HROC348 Solut | 300719**Ethnicity** Kaukasialainen**Morphology** Epiteelin kaltainen**Cell type** Epithelial cells**Growth properties** Tarttuva**Säätelytiedot****Citation** HROC348 (Cytionin luettelonumero 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.**Biomolekyylitiedot****MSI-status** MSS**Käsittely****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glukoosia, w: 2,5 mM L-glutamiinia, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natriumpyruvaattia, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (Cytionin artikkelinumero 820400a)**Supplements** Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä**Dissociation Reagent** Accutase

HROC348 Solut | 300719

Subculturing Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.

Fluid renewal 2-3 kertaa viikossa

Freeze medium Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

HROC348 Solut | 300719

Incubation Atmosphere 37 °C, 5 %_{CO2}, kostutettu ilmakehä.

Flask Coating Ei mitään

Freezing Procedure Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäissä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Shipping Conditions Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäissä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Storage Conditions Pitkäaikaisäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.