

HROC348 sejtek | 300719

Általános információk

Description

A HROC348 egy humán kolorektális karcinóma sejtvonala, amely egy felnőtt férfi betegből kivágott primer tumorból származik, akinél szigmbélrákot diagnosztizáltak. A daganatot közepesen előrehaladott adenokarcinómának (T3, G3, N2) minősítették, ami jelentős helyi inváziót és nyirokcsomó-érintettséget jelzett, ami összhangban van a tumor agresszív viselkedésével. A karcinóma a szigmbélből, a sporadikus vastagbélrák gyakori anatómiai helyéről származott, és mikroszatellita-stabilitást (MSS) mutatott, ami inkább a kromoszóma-instabilitás (CIN) altípusba sorolja, mint a vastagbél-daganatok MSI-magasan hipermutált osztályába.

A HROC348 molekuláris profilalkotása mind a KRAS, mind a BRAF esetében vad típusú státust mutat, ami arra utal, hogy ezek a gének nem rendelkeznek közös aktiváló mutációkkal, amelyek gyakran szerepet játszanak a vastagbélrák progressziójában és a terápiás rezisztenciában. Ez a molekuláris háttér teszi a HROC348-at különösen alkalmassá a nem mutálódott RAS/RAF jelátvitelre és annak a tumor növekedésére, a terápiás válaszra és a rezisztencia mechanizmusaira gyakorolt hatására összpontosító vizsgálatokra. A sejtvonala nem mutatja a CpG-sziget-metilátor fenotípust (CIMP), ami tovább erősíti a hagyományos (nem hipermutált) vastagbélrák alcsoportba való besorolását.

Klinikai szempontból a tumor pozitív volt nyirokcsomó-metasztázisra (LN_pos = 2), de távoli áttétet (M) csak egyszer észleltek, és nem jegyezték fel jobb oldali vastagbél érintettséget, ami megfelel a bal oldali vastagbélrák profiljának. Ezek a jellemzők az MSS-státussal és a molekuláris markerekkel együtt a HROC348-at reprezentatív modellként pozicionálják a bal oldali, KRAS/BRAF vad típusú, mikroszatellita-stabil kolorektális adenokarcinóma tanulmányozására. Emellett transzlációs értéket kínál a célzott terápiák és immunmoduláló szerek preklinikai teszteléséhez az MSS-tumorokban, amelyek jellemzően kevésbé reagálnak az immunellenőrzési pontblokádra.

Organism

Emberi

Tissue

Szigmoid vastagbél

Disease

Karcinóma

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

Jellemzők

Age

77 év

Gender

Férfi

Ethnicity

Kaukázusi

HROC348 sejtek | 300719

Morphology	Epithelszerű
Cell type	Epithelial cells
Growth properties	Adherent

Szabályozási adatok

Citation	HROC348 (Cytion katalógusszám 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.

Biomolekuláris adatok

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

A kezelése

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glükóz, w: 2,5 mM L-Glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM nátrium-piruvát, w: 1,2 g/L NaHCO ₃ (Cytion 820400a cikkszám)
Supplements	A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel
Dissociation Reagent	Accutase

Subculturing Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.

HROC348 sejtek | 300719**Fluid renewal** hetente 2-3 alkalommal**Freeze medium**

Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a krioüklét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejt kölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , párasított légkör.**Flask Coating**

Nincs

HROC348 sejtek | 300719

Freezing Procedure

A kriokonzervált sejtvonalatokat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejtvonalatokat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C -on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.