

HROC348 ląstelės | 300719

Bendra informacija

Description

HROC348 yra žmogaus storosios žarnos karcinomos ląstelių linija, gauta iš pirminio naviko, rezekuoto suaugusiam vyrui, kuriam diagnozuotas sigmoidos storosios žarnos vėžys. Navikas buvo klasifikuojamas kaip vidutiniškai pažengusi adenokarcinoma (T3, G3, N2), rodanti didelę vietinę invaziją ir limfmazgių įsitraukimą, o tai atitinka agresyvią naviko elgseną. Karcinoma atsirado sigmoidinėje gaubtinėje žarnoje - dažnoje sporadinio storosios žarnos vėžio anatominėje vietoje - ir pasižymėjo mikrosatelitiniu stabilumu (MSS), todėl priskiriama chromosominio nestabilumo (CIN) potipiui, o ne MSI didelės hipermutacijos storosios žarnos navikų klasei.

HROC348 molekulinis profiliavimas rodo, kad KRAS ir BRAF yra laukinio tipo, o tai rodo, kad šiuose genuose nėra bendrų aktyvuojančių mutacijų, kurios dažnai lemia storosios žarnos vėžio progresavimą ir atsparumą gydymui. Dėl šios molekulinės kilmės HROC348 ypač tinka tyrimams, kuriuose daugiausia dėmesio skiriama nemutavusiems RAS ir (arba) RAF signalams ir jų reikšmei naviko augimui, atsakui į gydymą ir atsparumo mechanizmams. Šiai ląstelių linijai nebūdingas CpG salų metilinimo fenotipas (CIMP), o tai dar labiau patvirtina jos priskyrimą įprastiniam (nehipermutuotam) storosios žarnos vėžio pogrupiui.

Klinikiniu požiūriu navikas buvo teigiamas dėl limfmazgių metastazių (LN_pos = 2), tačiau tolimesios metastazės (M) buvo pastebėtos tik vieną kartą, o dešinės pusės storosios žarnos pažeidimo neužfiksuota, kas atitinka kairės pusės storosios žarnos vėžio profilį. Šie požymiai kartu su MSS statusu ir molekuliniais žymenimis leidžia HROC348 laikyti reprezentatyviu modeliu tiriant kairės pusės, KRAS/BRAF laukinio tipo, mikrosatelitų stabilų storosios žarnos adenokarcinomą. Jis taip pat turi praktinę reikšmę ikiklinikiniams tikslinės terapijos ir imunomoduliuojančių medžiagų bandymams su MSS navikais, kurie paprastai mažiau reaguoja į imuninių kontrolinių taškų blokadą.

Organism Žmogus

Tissue Sigmoidinė storoji žarna

Disease Karcinoma

Charakteristikos

Age 77 metai

Gender Vyras

Ethnicity Kaukazių

Morphology Į epitelį panašus

Growth properties Priglundęs

Reguliavimo duomenys

HROC348 ląstelės | 300719

Citation HROC348 (Cytion katalogo numeris 300719)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

Biomolekuliniai duomenys

MSI-status MSS

Tvarkymas

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l gliukozės, w: 2,5 mM L-glutamino, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natrio piruvato, w: 1,2 g/l NaHCO₃ (Cytion gaminio numeris 820400a)

Supplements Papildykite terpę 10 % FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkeltkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.

Fluid renewal 2-3 kartus per savaitę

Freeze medium Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

HROC348 ląstelės | 300719

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Nėra

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

HROC348 ląstelės | 300719

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystą azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.