

HROC348 šūnas | 300719

Vispārīga informācija

Description

HROC348 ir cilvēka kolorektālās karcinomas šūnu līnija, kas iegūta no primārā audzēja, kas izgriezts pieaugušam vīrietim, kuram diagnosticēts sigmoidālās resnās zarnas vēzis. Audzējs tika klasificēts kā vidēji progresējus adenokarcinoma (T3, G3, N2), norādot uz ievērojamu lokālu invāziju un limfmezglu iesaisti, kas atbilst agresīvai audzēja uzvedībai. Karcinomas izcelsme bija sigmoidālajā resnajā zarnā, kas ir izplatīta sporādiska kolorektālā vēža anatomiskā vieta, un tai bija raksturīga mikrosatelītu stabilitāte (MSS), kas to pieskaita hromosomālās nestabilitātes (CIN) apakštipam, nevis MSI augstas hipermutācijas klases kolorektālajiem audzējiem.

HROC348 molekulārā profilēšana liecina par KRAS un BRAF savvaļas tipa statusu, kas liecina, ka šajos gēnos nav kopīgu aktivizējošu mutāciju, kuras bieži vien ir saistītas ar kolorektālā vēža progresēšanu un rezistenci pret terapiju. Šis molekulārais fons padara HROC348 īpaši piemērotu pētījumiem, kas vērsti uz nemutētu RAS/RAF signalizāciju un tās ietekmi uz audzēja augšanu, terapeitisko reakciju un rezistences mehānismiem. Šai šūnu līnijai nepiemīt CpG salu metilatora fenotips (CIMP), kas vēl vairāk apstiprina tās klasifikāciju parastā (nehipermutētā) kolorektālā vēža apakšgrupā.

Klīniski audzējam bija pozitīvas limfmezglu metastāzes (LN_pos = 2), bet attālinātas metastāzes (M) tika konstatētas tikai vienu reizi, un netika reģistrēta labās puses resnās zarnas aizskaršana, kas atbilst kreisās puses kolorektālā vēža profilam. Šis pazīmes kopā ar MSS statusu un molekulārajiem marķieriem pozicionē HROC348 kā reprezentatīvu modeli kreisās puses, KRAS/BRAF savvaļas tipa, mikrosatelītu stabilas kolorektālās adenokarcinomas izpētei. Tas piedāvā arī pirmsklīnisko vērtību mērķterapiju un imūnmodulējošo līdzekļu pirmsklīniskai testēšanai MSS audzējiem, kas parasti ir mazāk atsaucīgi uz imūnās kontrolpunktu blokādi.

Organism Cilvēks

Tissue Sigmoidālā resnās zarnas

Disease Karcinoma

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

Raksturojums

Age 77 gadi

Gender Vīrieši

Ethnicity Kaukāzietis

Morphology Epitēlijveidīgs

HROC348 šūnas | 300719

Cell type Epithelial cells**Growth properties** Adherent**Normatīvie dati****Citation** HROC348 (Cytion kataloga numurs 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.**Biomolekulārie dati****MSI-status** MSS**Darbs ar****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glikozes, w: 2,5 mM L-glutamīna, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM nātrija piruvāta, w: 1,2 g/l NaHCO₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820400a)**Supplements** Papildināt barotni ar 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Noņem veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.**Fluid renewal** 2 līdz 3 reizes nedēļā

HROC348 šūnas | 300719**Freeze medium**

Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%_{CO2}, mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Neviens

Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

HROC348 šūnas | 300719

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.