

Komórki HROC348 | 300719

Informacje ogólne

Description

HROC348 to ludzka linia komórkowa raka jelita grubego pochodząca z guza pierwotnego wyciętego u dorosłego mężczyzny, u którego zdiagnozowano raka esicy. Guz został sklasyfikowany jako umiarkowanie zaawansowany gruczolakorak (T3, G3, N2), wskazujący na znaczną miejscową inwazję i zajęcie węzłów chłonnych, co jest zgodne z agresywnym zachowaniem guza. Nowotwór wywodził się z esicy, powszechnego miejsca anatomicznego sporadycznego raka jelita grubego, i wykazywał stabilność mikrosatelitarną (MSS), co przypisuje go raczej do podtypu niestabilności chromosomalnej (CIN) niż do klasy nowotworów jelita grubego z hipermutacją o wysokim MSI.

Profilowanie molekularne HROC348 wykazuje status typu dzikiego zarówno dla KRAS, jak i BRAF, co sugeruje brak wspólnych mutacji aktywujących w tych genach, które są często związane z progresją raka jelita grubego i opornością na terapię. To tło molekularne sprawia, że HROC348 jest szczególnie odpowiedni do badań skoncentrowanych na niezmutowanej sygnalizacji RAS/RAF i jej implikacjach we wzroście guza, odpowiedzi terapeutycznej i mechanizmach oporności. Linia komórkowa nie wykazuje fenotypu metylatora wysp CpG (CIMP), co dodatkowo wspiera jej klasyfikację w podgrupie konwencjonalnego (niezmutowanego) raka jelita grubego.

Klinicznie, guz był dodatni pod względem przerzutów do węzłów chłonnych (LN_pos = 2), ale odległe przerzuty (M) odnotowano tylko raz i nie odnotowano prawostronnego zajęcia okrężnicy, co jest zgodne z profilem lewostronnego raka jelita grubego. Cechy te, w połączeniu ze statusem MSS i markerami molekularnymi, pozycjonują HROC348 jako reprezentatywny model do badania lewostronnego gruczolakoraka jelita grubego stabilnego mikrosatelitarnie z dzikim typem KRAS/BRAF. Oferuje on również wartość translacyjną dla przedklinicznych testów terapii celowanych i środków immunomodulujących w guzach MSS, które zazwyczaj słabiej reagują na blokadę immunologicznych punktów kontrolnych.

Organism Człowiek

Tissue Okrężnica esowata

Disease Rak

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

Charakterystyka

Age 77 lat

Gender Mężczyzna

Komórki HROC348 | 300719**Ethnicity** Kaukaski**Morphology** Podobny do nabłonka**Cell type** Epithelial cells**Growth properties** Adherent**Dane regulacyjne****Citation** HROC348 (numer katalogowy Cytion 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.**Dane biomolekularne****MSI-status** MSS**Obsługa****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glukozy, w: 2,5 mM L-glutaminy, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM pirogronianu sodu, w: 1,2 g/l NaHCO₃ (numer artykułu Cytion 820400a)**Supplements** Uzupelnic podloze 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzucić supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.

Komórki HROC348 | 300719**Fluid renewal** 2 do 3 razy w tygodniu**Freeze medium**

Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere37°C, 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.**Flask Coating**

Brak

Komórki HROC348 | 300719

Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196°C . Przechowywanie w temperaturze -80°C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczone przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.