

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

Charakterystyka

Age 77 lat

Gender Mężczyzna

Ethnicity Kaukaski

Morphology Podobny do nabłonka

Growth properties Adherent

Komórki HROC348 | 300719

Dane regulacyjne

Citation HROC348 (numer katalogowy Cytion 300719)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606

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** Uzpełnić podłoże 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Usun 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.**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.

Komórki HROC348 | 300719**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 zawieszonych, 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
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

**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 czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki HROC348 | 300719

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 wykluczane 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.