

Celule HROC348 | 300719

Informații generale

Description

HROC348 este o linie celulară de carcinom colorectal uman derivată dintr-o tumoare primară rezecată de la un pacient adult de sex masculin diagnosticat cu cancer de colon sigmoid. Tumoarea a fost clasificată ca adenocarcinom moderat avansat (T3, G3, N2), indicând o invazie locală semnificativă și implicarea ganglionilor limfatici, în concordanță cu comportamentul agresiv al tumorii. Carcinomul a provenit din colonul sigmoid, un loc anatomic comun pentru cancerul colorectal sporadic, și a prezentat o stabilitate a microsateliților (MSS), care îl aliniaza cu subtipul instabilității cromozomiale (CIN), mai degrabă decât cu clasa MSI-high hipermutată a tumorilor colorectale.

Profilul molecular al HROC348 arată statutul de tip sălbatic atât pentru KRAS, cât și pentru BRAF, ceea ce sugerează absența mutațiilor de activare comune în aceste gene, care sunt frecvent implicate în progresia cancerului colorectal și în rezistența la tratament. Acest fond molecular face ca HROC348 să fie deosebit de potrivită pentru studii axate pe semnalizarea RAS/RAF nemutată și implicațiile acesteia în creșterea tumorală, răspunsul terapeutic și mecanismele de rezistență. Linia celulară nu prezintă fenotipul de metilator al insulelor CpG (CIMP), ceea ce susține în continuare clasificarea sa în cadrul subgrupului de cancer colorectal convențional (nehipermutat).

Din punct de vedere clinic, tumora a fost pozitivă pentru metastaze ganglionare (LN_pos = 2), dar metastazele la distanță (M) au fost observate o singură dată și nu a fost înregistrată nicio afectare a colonului drept, în concordanță cu un profil de cancer colorectal stâng. Aceste caracteristici, combinate cu statutul MSS și cu markerii moleculari, poziționează HROC348 ca un model reprezentativ pentru studierea adenocarcinomului colorectal din partea stângă, KRAS/BRAF wild-type, stabil la microsatelit. Acesta oferă, de asemenea, valoare translațională pentru testarea preclinică a terapiilor țintite și a agenților imuno-modulatori în tumorile MSS, care răspund de obicei mai puțin la blocarea punctelor de control imunitar.

Organism Om

Tissue Colonul sigmoid

Disease Carcinom

Caracteristici

Age 77 de ani

Gender Masculin

Ethnicity Caucazian

Morphology De tip epitelial

Growth properties Aderent

Celule HROC348 | 300719

Date de reglementare

Citation	HROC348 (număr de catalog Cytion 300719)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606

Date biomoleculare

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

Manipulare

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L Glucoză, w: 2,5 mM L-Glutamină, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM Piruvat de sodiu, w: 1,2 g/L NaHCO ₃ (număr articol Cytion 820400a)
Supplements	Suplimentați mediul cu 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Îndepărtați mediul vechi de pe celulele aderente și spălați-le cu PBS care nu conține calciu și magneziu. Pentru flacoanele T25, se utilizează 3-5 ml de PBS, iar pentru flacoanele T75, 5-10 ml. Apoi, se acoperă celulele complet cu Accutase, folosind 1-2 ml pentru flacoanele T25 și 2,5 ml pentru flacoanele T75. Lăsați celulele la incubare la temperatura camerei timp de 8-10 minute pentru a le detașa. După incubare, amestecați ușor celulele cu 10 ml de mediu pentru a le resuspenda, apoi centrifugați la 300xg timp de 3 minute. Aruncați supernatantul, resuspendați celulele în mediu proaspăt și transferați-le în flacoane noi care conțin deja mediu proaspăt.
Fluid renewal	de 2 până la 3 ori pe săptămână
Freeze medium	Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezghețare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanți optimizați și stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea și a reduce stresul indus de criogenie.

Celule HROC348 | 300719

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual.
7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă.
8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosferă umidificată.

Flask Coating

Niciuna

Freezing Procedure

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Shipping Conditions

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Celule HROC348 | 300719

Storage Conditions

Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

Controlul calității / Profil genetic / HLA

Sterility

Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență.

Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.