

Bunky HROC348 | 300719

Všeobecné informácie

Description

HROC348 je bunková línia ľudského kolorektálneho karcinómu odvodená z primárneho nádoru resekovaného u dospelého muža s diagnózou rakoviny sigmoidného tračníka. Nádor bol klasifikovaný ako stredne pokročilý adenokarcinóm (T3, G3, N2), čo naznačuje významnú lokálnu inváziu a postihnutie lymfatických uzlín, čo zodpovedá agresívnemu správaniu nádoru. Karcinóm vznikol v sigmoideu, bežnom anatomickom mieste sporadického kolorektálneho karcinómu, a vykazoval mikrosatelitnú stabilitu (MSS), čo ho radí skôr k podtypu chromozómovej nestability (CIN) než k triede hypermutovaných kolorektálnych nádorov s vysokým MSI.

Molekulárne profilovanie HROC348 vykazuje divoký typ KRAS aj BRAF, čo naznačuje neprítomnosť spoločných aktivačných mutácií v týchto génoch, ktoré sa často podieľajú na progresii kolorektálneho karcinómu a rezistencii na liečbu. Vďaka tomuto molekulárnemu pozadiu je HROC348 mimoriadne vhodný na štúdie zamerané na nemutovanú signalizáciu RAS/RAF a jej vplyv na rast nádoru, terapeutickú odpoveď a mechanizmy rezistencie. Bunková línia nevykazuje fenotyp CpG ostrovčekového metylátora (CIMP), čo ďalej podporuje jej zaradenie do podskupiny konvenčného (nehypermutovaného) kolorektálneho karcinómu.

Klinicky bol nádor pozitívny na metastázy v lymfatických uzlinách (LN_pos = 2), ale vzdialené metastázy (M) boli zaznamenané len raz a nebolo zaznamenané žiadne pravostranné postihnutie hrubého čreva, čo zodpovedá profilu ľavostranného kolorektálneho karcinómu. Tieto vlastnosti v kombinácii so stavom MSS a molekulárnymi markermi stavajú HROC348 do pozície reprezentatívneho modelu na štúdium ľavostranného, KRAS/BRAF divokého typu, mikrosatelitne stabilného kolorektálneho adenokarcinómu. Ponúka tiež translačnú hodnotu pre predklinické testovanie cielených terapií a imunomodulačných látok v nádoroch MSS, ktoré sú zvyčajne menej citlivé na blokádu imunitných kontrolných bodov.

Organism

Ľudské

Tissue

Sigmoidné hrubé črevo

Disease

Karcinóm

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

Charakteristika

Age

77 rokov

Gender

Muži

Ethnicity

Kaukazský

Bunky HROC348 | 300719**Morphology** Epitelu podobné**Cell type** Epithelial cells**Growth properties** Adherent**Regulačné údaje****Citation** HROC348 (katalógové číslo 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.**Biomolekulárne údaje****MSI-status** MSS**Spracovanie****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glukózy, w: 2,5 mM L-glutamínu, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM pyruvátu sodného, w: 1,2 g/l NaHCO₃ (číslo výrobku Cytion 820400a)**Supplements** Doplníte médium o 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredujte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.**Fluid renewal** 2 až 3-krát týždenne

Bunky HROC348 | 300719

Freeze medium

Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri $300 \times g$ počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žiadne

Freezing Procedure

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Bunky HROC348 | 300719

Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.