

HROC348 celice | 300719

Splošne informacije

Description

HROC348 je celična linija človeškega kolorektalnega karcinoma, pridobljena iz primarnega tumorja, izrezanega pri odraslem moškem bolniku z diagnozo raka sigmoidnega debelega črevesa. Tumor je bil razvrščen kot zmerno napredoval adenokarcinom (T3, G3, N2), kar kaže na znatno lokalno invazijo in prizadetost bezgavk, kar ustreza agresivnemu obnašanju tumorja. Karcinom je izhajal iz sigmoidnega debelega črevesa, pogostega anatomskega mesta za sporadični kolorektalni rak, in je imel mikrosatelitno stabilnost (MSS), kar ga uvršča v podtip kromosomske nestabilnosti (CIN) in ne v razred kolorektalnih tumorjev z visoko stopnjo hipermutacije MSI.

Molekularno profiliranje HROC348 kaže na divji tip KRAS in BRAF, kar kaže na odsotnost skupnih aktivacijskih mutacij v teh genih, ki so pogosto vpleteni v napredovanje kolorektalnega raka in odpornost na zdravljenje. Zaradi tega molekularnega ozadja je HROC348 še posebej primeren za študije, osredotočene na nemutirano signalizacijo RAS/RAF in njen vpliv na rast tumorja, terapevtski odziv in mehanizme odpornosti. Celična linija nima fenotipa metilatorja otokov CpG (CIMP), kar dodatno podpira njeno uvrstitev v podskupino običajnega (nehipermutiranega) kolorektalnega raka.

Klinično je bil tumor pozitiven na metastaze v bezgavkah (LN_pos = 2), vendar so bile oddaljene metastaze (M) zabeležene le enkrat, prav tako pa ni bila zabeležena nobena desnostranska prizadetost debelega črevesa, kar ustreza profilu levostranskega kolorektalnega raka. Te značilnosti skupaj s statusom MSS in molekularnimi označevalci postavljajo HROC348 kot reprezentativen model za preučevanje levostranskega, KRAS/BRAF divjega tipa, mikrosatelitno stabilnega kolorektalnega adenokarcinoma. Prav tako ima translacijsko vrednost za predklinično testiranje tarčnih terapij in imunomodulatornih sredstev v tumorjih MSS, ki so običajno manj odzivni na blokado imunskih kontrolnih točk.

Organism Človek

Tissue Sigmoidno črevo

Disease Karcinom

Značilnosti

Age 77 let

Gender Moški

Ethnicity Kavkaški

Morphology Epitelijam podobni

Growth properties Pripadajoče

HROC348 celice | 300719

Regulativni podatki

Citation HROC348 (katalogška številka Cytion 300719)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

Biomolekularni podatki

MSI-status MSS

Ravnanje s spletno stranjo

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glukoze, w: 2,5 mM L-glutamina, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natrijevega piruvata, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (številka izdelka Cytion 820400a)

Supplements Gojišče dopolnite z 10 % FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavržite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.

Fluid renewal 2 do 3-krat na teden

Freeze medium Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (katalogška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročene s kriom.

HROC348 celice | 300719

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu kriovial takoj shranite pri temperaturi pod $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $300 \times g$ 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Flask Coating

Nič

Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

HROC348 celice | 300719

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vial postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.