

Клітини HROC348 | 300719

Загальна інформація

Description

HROC348 - це клітинна лінія колоректальної карциноми людини, отримана з первинної пухлини, видаленої у дорослого пацієнта чоловічої статі з діагнозом рак сигмовидної кишки. Пухлина була класифікована як помірно поширена аденокарцинома (T3, G3, N2), що свідчить про значну місцеву інвазію та ураження лімфатичних вузлів, що відповідає агресивній поведінці пухлини. Карцинома виникла в сигмовидній кишці, поширеному анатомічному місці для спорадичного колоректального раку, і характеризувалася мікросателітною стабільністю (MSS), що відносить її до підтипу хромосомної нестабільності (CIN), а не до класу колоректальних пухлин з високим ступенем гіпермутації MSI.

Молекулярне профілювання HROC348 показує статус дикого типу як для KRAS, так і для BRAF, що свідчить про відсутність спільних активуючих мутацій в цих генах, які часто беруть участь у прогресуванні колоректального раку та резистентності до терапії. Такий молекулярний фон робить HROC348 особливо придатною для досліджень, спрямованих на вивчення не мутованого сигналу RAS/RAF та його впливу на ріст пухлини, терапевтичну відповідь і механізми резистентності. Клітинна лінія не має фенотипу острівного метилатора CpG (CIMP), що додатково підтверджує її віднесення до звичайної (негіпермутованої) підгрупи колоректального раку.

Клінічно пухлина була позитивною на метастазування в лімфатичні вузли (LN_pos = 2), але віддалене метастазування (M) було виявлено лише один раз, і не було зареєстровано ураження правої половини товстої кишки, що відповідає профілю лівостороннього колоректального раку. Ці особливості в поєднанні зі статусом MSS і молекулярними маркерами роблять HROC348 репрезентативною моделлю для вивчення лівобічної, дикого типу KRAS/BRAF, мікросателітно-стабільної колоректальної аденокарциноми. Це також має практичне значення для доклінічного тестування таргетної терапії та імунотерапії препаратів у пухлинах MSS, які, як правило, менш чутливі до блокади імунних контрольних точок.

Organism Людина

Tissue Сигмовидна кишка

Disease Карцинома

Характеристики

Age 77 років

Gender Чоловік

Ethnicity Кавказець

Morphology Епітеліальноподібні

Клітини HROC348 | 300719

Growth properties Адепт

Нормативні дані

Citation HROC348 (номер за каталогом Cytion 300719)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

Біомолекулярні дані

MSI-status MSS

Обробка

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 г/л Глюкоза, w: 2,5 мМ L-глутамін, w: 15 мМ HEPES, w: 0,5 мМ Піруват натрію, w: 1,2 г/л NaHCO₃ (цит. номер 820400a)

Supplements Додайте до середовища 10% FBS

Dissociation Reagent Аккутаза

Subculturing Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.

Fluid renewal 2-3 рази на тиждень

Freeze medium Як середовище кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

Клітини HROC348 | 300719

Thawing and Culturing Cells

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче -150°C , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануливши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при $300 \times g$ протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтеся встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , волога атмосфера.

Flask Coating

Ні

Freezing Procedure

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78°C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Клітини HROC348 | 300719

Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Storage Conditions

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості / Генетичний профіль / HLA

Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибкового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.