

Tế bào HROC348 | 300719

Thông tin chung

Description

HROC348 là dòng tế bào ung thư đại tràng người được phân lập từ khối u nguyên phát được phẫu thuật cắt bỏ từ một bệnh nhân nam trưởng thành được chẩn đoán mắc ung thư đại tràng sigmoid. Khối u được phân loại là ung thư tuyến trung bình tiến triển (T3, G3, N2), cho thấy sự xâm lấn cục bộ đáng kể và sự tham gia của hạch bạch huyết, phù hợp với hành vi ác tính của khối u. Ung thư xuất phát từ đại tràng sigmoid, một vị trí giải phẫu phổ biến của ung thư đại trực tràng sporadic, và có tính ổn định microsatellite (MSS), điều này xếp nó vào nhóm bất ổn nhiễm sắc thể (CIN) thay vì nhóm MSI-cao có đột biến cao của các khối u đại trực tràng.

Phân tích phân tử của HROC348 cho thấy trạng thái kiểu gen hoang dã (wild-type) cho cả KRAS và BRAF, cho thấy sự vắng mặt của các đột biến kích hoạt phổ biến trong các gen này, thường liên quan đến tiến triển ung thư đại trực tràng và kháng trị liệu. Nền tảng phân tử này khiến HROC348 đặc biệt phù hợp cho các nghiên cứu tập trung vào tín hiệu RAS/RAF không đột biến và tác động của nó đối với sự phát triển khối u, phản ứng điều trị và cơ chế kháng trị. Dòng tế bào không thể hiện kiểu hình methyl hóa đảo CpG (CIMP), càng củng cố việc phân loại nó vào nhóm ung thư đại trực tràng truyền thống (không hypermutated).

Lâm sàng, khối u có di căn hạch bạch huyết (LN_pos = 2), nhưng di căn xa (M) chỉ được ghi nhận một lần, và không có sự tham gia của đại tràng bên phải, phù hợp với đặc điểm của ung thư đại trực tràng bên trái. Các đặc điểm này, kết hợp với trạng thái MSS và các dấu ấn phân tử, đặt HROC348 là mô hình đại diện để nghiên cứu ung thư đại tràng bên trái, KRAS/BRAF kiểu hoang dã, ổn định microsatellite. Nó cũng mang lại giá trị chuyển giao cho thử nghiệm tiền lâm sàng của các liệu pháp nhắm mục tiêu và các tác nhân điều hòa miễn dịch trong các khối u MSS, vốn thường ít đáp ứng với chặn điểm kiểm soát miễn dịch.

Organism

Con người

Tissue

Đại tràng sigmoid

Disease

Ung thư biểu mô

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

Đặc điểm

Age

77 năm

Gender

Nam

Ethnicity

Người da trắng

Morphology

Tương tự biểu mô

Tế bào HROC348 | 300719

Cell type Epithelial cells**Growth properties** Người tuân thủ

Dữ liệu quy định

Citation HROC348 (Số catalog 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.

Dữ liệu sinh học phân tử

MSI-status MSS

Xử lý

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (tỷ lệ 1:1), chứa: 3,1 g/L glucose, chứa: 2,5 mM L-glutamine, chứa: 15 mM HEPES, chứa: 0,5 mM natri pyruvate, chứa: 1,2 g/L NaHCO₃ (Số hiệu sản phẩm Cytion 820400a)**Supplements** Bổ sung 10% huyết thanh bò phôi (FBS) vào môi trường nuôi cấy**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Loại bỏ môi trường nuôi cấy cũ khỏi các tế bào bám dính và rửa chúng bằng PBS không chứa canxi và magiê. Đối với bình T25, sử dụng 3-5 ml PBS, và đối với bình T75, sử dụng 5-10 ml. Sau đó, phủ hoàn toàn các tế bào bằng Accutase, sử dụng 1-2 ml cho bình T25 và 2,5 ml cho bình T75. Để tế bào ủ ở nhiệt độ phòng trong 8-10 phút để tách chúng ra. Sau khi ủ, nhẹ nhàng trộn tế bào với 10 ml môi trường để tái phân tán chúng, sau đó ly tâm ở 300xg trong 3 phút. Loại bỏ dịch trên, tái phân tán tế bào trong môi trường tươi và chuyển chúng vào các bình mới đã chứa môi trường tươi.**Fluid renewal** 2 đến 3 lần mỗi tuần

Tế bào HROC348 | 300719**Freeze medium**

Như một môi trường bảo quản đông lạnh, chúng tôi sử dụng môi trường tăng trưởng hoàn chỉnh (bao gồm FBS) + 10% DMSO để đảm bảo độ sống sau khi rã đông, hoặc CM-1 (mã sản phẩm Cytion 800100), bao gồm các chất bảo vệ thẩm thấu và chất ổn định chuyển hóa được tối ưu hóa để nâng cao khả năng phục hồi và giảm stress do đông lạnh gây ra.

Thawing and Culturing Cells

1. Xác nhận rằng ống nghiệm vẫn được đông lạnh sâu khi giao hàng, vì tế bào được vận chuyển trên đá khô để duy trì nhiệt độ tối ưu trong quá trình vận chuyển.
2. Khi nhận hàng, hãy bảo quản ống nghiệm đông lạnh ngay lập tức ở nhiệt độ dưới -150°C để đảm bảo tính toàn vẹn của tế bào, hoặc tiến hành bước 3 nếu cần nuôi cấy ngay lập tức.
3. Để nuôi cấy ngay lập tức, hãy rã đông ống nghiệm nhanh chóng bằng cách ngâm nó trong bồn nước 37°C với nước sạch và chất kháng khuẩn, khuấy nhẹ trong 40-60 giây cho đến khi còn lại một khối băng nhỏ.
4. Thực hiện tất cả các bước tiếp theo trong điều kiện vô trùng trong tủ hút khí, khử trùng ống cryovial bằng cồn 70% trước khi mở.
5. Mở ống đã khử trùng một cách cẩn thận và chuyển hỗn hợp tế bào vào ống ly tâm 15 ml chứa 8 ml môi trường nuôi cấy ở nhiệt độ phòng, khuấy nhẹ.
6. Ly tâm hỗn hợp ở 300 x g trong 3 phút để tách tế bào và cẩn thận loại bỏ dịch siêu âm chứa môi trường đông lạnh còn lại.
7. Nhẹ nhàng hòa tan lại khối tế bào trong 10 ml môi trường nuôi cấy tươi. Đối với tế bào bám dính, chia hỗn hợp vào hai bình nuôi cấy T25; đối với tế bào nuôi cấy lơ lửng, chuyển toàn bộ môi trường vào một bình T25 để thúc đẩy tương tác và phát triển tế bào hiệu quả.
8. Tuân thủ các quy trình nuôi cấy con được thiết lập để duy trì sự phát triển và bảo quản dòng tế bào, đảm bảo kết quả thí nghiệm đáng tin cậy.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , môi trường ẩm.

Flask Coating

Không có

Freezing Procedure

Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng -78°C trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.

Tế bào HROC348 | 300719

Shipping Conditions

Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng -78°C trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.

Storage Conditions

Để bảo quản lâu dài, hãy đặt ống nghiệm vào nitơ lỏng ở pha hơi ở nhiệt độ khoảng -150 đến -196°C . Việc bảo quản ở -80°C chỉ được chấp nhận như một bước trung gian ngắn hạn trước khi chuyển sang nitơ lỏng.

Kiểm soát chất lượng / Hồ sơ di truyền / HLA

Sterility

Sự nhiễm khuẩn Mycoplasma được loại trừ bằng cả các phương pháp xét nghiệm dựa trên PCR và các phương pháp phát hiện Mycoplasma dựa trên phát quang.

Để đảm bảo không có nhiễm khuẩn vi khuẩn, nấm hoặc men, các mẫu nuôi cấy tế bào được kiểm tra trực quan hàng ngày.