

HROC348-celler | 300719

Generel information

Description

HROC348 er en human kolorektal karcinomcellelinje, der stammer fra en primær tumor, som blev fjernet fra en voksen mandlig patient, der var diagnosticeret med kræft i sigmoideum. Tumoren blev klassificeret som et moderat fremskredent adenokarcinom (T3, G3, N2), hvilket indikerede betydelig lokal invasion og lymfeknudeinddragelse i overensstemmelse med aggressiv tumoradfærd. Karcinomet opstod i sigmoideum, et almindeligt anatomisk sted for sporadisk kolorektal cancer, og havde mikrosatellitstabilitet (MSS), hvilket placerer den i subtypen kromosomal ustabilitet (CIN) snarere end i den MSI-høje hypermuterede klasse af kolorektale tumorer.

Molekylær profilering af HROC348 viser vildtypestatus for både KRAS og BRAF, hvilket tyder på fravær af almindelige aktiverende mutationer i disse gener, som ofte er involveret i progression af kolorektal cancer og terapieresistens. Denne molekylære baggrund gør HROC348 særligt velegnet til undersøgelser med fokus på ikke-muteret RAS/RAF-signaler og dens betydning for tumorvækst, terapeutisk respons og resistensmekanismer. Cellelinjen udviser ikke CpG-ø-methyleringsfænotypen (CIMP), hvilket yderligere understøtter dens klassificering inden for den konventionelle (ikke-hypermuterede) kolorektale cancer-undergruppe.

Klinisk var tumoren positiv for lymfeknudemetastase (LN_pos = 2), men fjernmetastase (M) blev kun noteret én gang, og der blev ikke registreret nogen højresidig koloninvolvering, hvilket er i overensstemmelse med en venstresidig kolorektal cancerprofil. Disse træk kombineret med MSS-status og molekylære markører placerer HROC348 som en repræsentativ model til undersøgelse af venstresidigt, KRAS/BRAF-vildtype, mikrosatellitstabilt kolorektalt adenokarcinom. Det giver også translationel værdi til præklinisk testning af målrettede behandlinger og immunmodulerende midler i MSS-tumorer, som typisk reagerer mindre på immuntjekpunktblokade.

Organism

Menneske

Tissue

Sigmoid kolon

Disease

Karcinom

Metastatic site

Ikke angivet (adenokarcinom i den primære sigmoidkolon; ingen bekræftede fjernmetastaser på tidspunktet for prøveudtagningen)

Applications

Forskning i kolorektal kræft; biologi ved KRAS/BRAF-vildtype MSS-kolorektal kræft; modellering af venstre-sidet kolorektal kræft; lægemiddelfølsomhed i tumorer uden RAS/RAF-mutationer; HROC Linnebacher-biobankundersøgelser; evaluering af immunterapi mod kolorektal kræft; præklinisk onkologi

Karakteristika

Age

77 år

Gender

Mand

HROC348-celler | 300719

Ethnicity	Kaukasisk
Morphology	Epitel-lignende
Cell type	Epitheliale celler
Growth properties	Vedhæftende

Regulatoriske data

Citation	HROC348 (Cytion katalognummer 300719)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	Ikke tildelt
GMO Status	Ingen genetisk modifikation; vildtype-CRC-cellelinje fra en patient, stammende fra HROC Linnebacher-biobanken. KRAS-vildtype, BRAF-vildtype, MSS, CIMP-negativ.

Biomolekylære data

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

Håndtering

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L Glucose, w: 2,5 mM L-Glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM Sodium pyruvate, w: 1,2 g/L NaHCO ₃ (Cytion artikelnummer 820400a)
Supplements	Suppler mediet med 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspender cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.

HROC348-celler | 300719

Fluid renewal 2 til 3 gange om ugen

Freeze medium Som kryopræserveringsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under -150 °C for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et 37 °C varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryoviolet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved 300 x g i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturbolbe; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-bolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO_2 , befugtet atmosfære.

Flask Coating Ingen

HROC348-celler | 300719

Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol og molekylær analyse

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.