

HROC348-Zellen | 300719

Allgemeine Informationen

Description

HROC348 ist eine humane Kolorektalkarzinom-Zelllinie, die von einem Primärtumor stammt, der einem erwachsenen männlichen Patienten mit der Diagnose Sigmakolonkarzinom entnommen wurde. Der Tumor wurde als mäßig fortgeschrittenes Adenokarzinom (T3, G3, N2) eingestuft und wies eine erhebliche lokale Invasion und Lymphknotenbefall auf, was auf ein aggressives Tumorverhalten hindeutet. Das Karzinom entstand im Colon sigmoideum, einer häufigen anatomischen Stelle für sporadische kolorektale Karzinome, und wies eine Mikrosatellitenstabilität (MSS) auf, die es eher dem Subtyp der chromosomalen Instabilität (CIN) als der MSI-high hypermutated-Klasse kolorektaler Tumoren zuordnet.

Die molekulare Profilierung von HROC348 zeigt einen Wildtyp-Status sowohl für KRAS als auch für BRAF, was darauf hindeutet, dass in diesen Genen, die häufig mit dem Fortschreiten von Darmkrebs und Therapieresistenz in Verbindung gebracht werden, keine gemeinsamen aktivierenden Mutationen vorliegen. Aufgrund dieses molekularen Hintergrunds eignet sich HROC348 besonders für Studien, die sich auf die nicht mutierte RAS/RAF-Signalübertragung und deren Auswirkungen auf das Tumorwachstum, das Ansprechen auf Therapien und die Resistenzmechanismen konzentrieren. Die Zelllinie weist keinen CpG-Insel-Methylator-Phänotyp (CIMP) auf, was ihre Einstufung in die Untergruppe der konventionellen (nicht-hypermutierten) kolorektalen Karzinome weiter unterstützt.

Klinisch war der Tumor positiv für Lymphknotenmetastasen (LN_pos = 2), aber Fernmetastasen (M) wurden nur einmal festgestellt, und es wurde keine rechtsseitige Kolonbeteiligung verzeichnet, was mit einem linksseitigen Kolorektalkarzinom-Profil übereinstimmt. Diese Merkmale in Verbindung mit dem MSS-Status und den molekularen Markern machen HROC348 zu einem repräsentativen Modell für die Untersuchung von linksseitigen, KRAS/BRAF-Wildtyp- und Mikrosatelliten-stabilen kolorektalen Adenokarzinomen. Darüber hinaus bietet es einen translationalen Wert für die präklinische Erprobung zielgerichteter Therapien und immunmodulatorischer Wirkstoffe bei MSS-Tumoren, die in der Regel weniger gut auf die Blockade von Immun-Checkpoints ansprechen.

Organism Menschen

Tissue Colon sigmoideum

Disease Karzinom

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

Merkmale

Age 77 Jahre

Gender Männlich

HROC348-Zellen | 300719

Ethnicity	Kaukasisch
Morphology	Epithelähnlich
Cell type	Epithelial cells
Growth properties	Adhärent

Regulatorische Daten

Citation	HROC348 (Cytion-Katalognummer 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.

Biomolekulare Daten

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

Handhabung

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 Natriumpyruvat, w: 1,2 g/L NaHCO ₃ (Cytion-Artikelnummer 820400a)
Supplements	Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase

HROC348-Zellen | 300719

Subculturing Entfernen Sie das alte Medium von den adhärenen Zellen und waschen Sie sie mit PBS, das kein Kalzium und Magnesium enthält. Für T25-Kolben 3-5 ml PBS und für T75-Kolben 5-10 ml verwenden. Anschließend werden die Zellen vollständig mit Accutase bedeckt, wobei 1-2 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben verwendet werden. Lassen Sie die Zellen 8-10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, um sie abzulösen. Nach der Inkubation mischen Sie die Zellen vorsichtig mit 10 ml Medium, um sie zu resuspendieren, und zentrifugieren sie dann 3 Minuten lang bei 300xg. Den Überstand verwerfen, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Kolben überführen, die bereits frisches Medium enthalten.

Fluid renewal 2 bis 3 Mal pro Woche

Freeze medium Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

Thawing and Culturing Cells

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter -150 °C, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei 300 x g, um die Zellen abzutrennen, und verwerfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhärenen Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

HROC348-Zellen | 300719

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO_2 , befeuchtete Atmosphäre.

Flask Coating Keine

Freezing Procedure Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Shipping Conditions Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Storage Conditions Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Qualitätskontrolle / Genetisches Profil / HLA

Sterility Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.

Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.