

HROC348 Cellen | 300719

Algemene informatie

Description

HROC348 is een humane colorectaalcarcinoomcellijn afkomstig van een primaire tumor van een volwassen mannelijke patiënt met sigmoid colonkanker. De tumor werd geclassificeerd als een matig gevorderd adenocarcinoom (T3, G3, N2), met vermelding van significante lokale invasie en betrokkenheid van lymfeklieren, consistent met agressief tumorgedrag. Het carcinoom ontstond in het sigmoid colon, een veel voorkomende anatomische locatie voor sporadische colorectale kanker, en vertoonde microsatellietstabiliteit (MSS), waardoor het op één lijn werd gebracht met het subtype chromosomale instabiliteit (CIN) in plaats van de MSI-hoge hypergemuteerde klasse van colorectale tumoren.

Moleculaire profilering van HROC348 toont een wild-type status voor zowel KRAS als BRAF, wat de afwezigheid suggereert van gemeenschappelijke activerende mutaties in deze genen die vaak betrokken zijn bij de progressie van colorectale kanker en therapieresistentie. Deze moleculaire achtergrond maakt HROC348 bijzonder geschikt voor studies gericht op niet-gemuteerde RAS/RAF signalering en de implicaties daarvan voor tumorgroei, therapeutische respons en resistentiemechanismen. De cellijn vertoont geen CpG eiland methylator fenotype (CIMP), wat de classificatie binnen de conventionele (niet gemuteerde) colorectale kanker subgroep verder ondersteunt.

Klinisch was de tumor positief voor lymfekliermetastase (LN_pos = 2), maar verre metastase (M) werd slechts eenmaal waargenomen en er was geen betrokkenheid van de rechterzijde van de dikke darm, wat consistent is met een linkszijdig colorectaal kankerprofiel. Deze kenmerken, gecombineerd met de MSS-status en moleculaire markers, positioneren HROC348 als een representatief model voor het bestuderen van linkszijdig, KRAS/BRAF wild-type, microsatelliet-stabiel colorectaal adenocarcinoom. Het biedt ook translationele waarde voor het preklinisch testen van doelgerichte therapieën en immuunmodulerende middelen in MSS-tumoren, die doorgaans minder reageren op immuuncheckpointblokkade.

Organism

Mens

Tissue

Sigmoid colon

Disease

Carcinoom

Metastatic site

Niet gemeld (adenocarcinoom van het primaire sigmoïde colon; geen bevestigde metastasen op afstand op het moment van de bemonstering)

Applications

Onderzoek naar colorectale kanker; biologie van KRAS/BRAF-wildtype MSS-CRC; modellering van linkszijdige colorectale kanker; geneesmiddelgevoeligheid bij tumoren zonder RAS/RAF-mutaties; HROC Linnebacher-biobankstudies; evaluatie van immuuntherapie bij CRC; preklinische oncologie

Kenmerken

Age

77 jaar

Gender

Mannelijk

HROC348 Cellen | 300719

Ethnicity	Kaukasisch
Morphology	Epitheelachtig
Cell type	Epitheelcellen
Growth properties	Aanhangend

Regelgevende gegevens

Citation	HROC348 (Cytion catalogusnummer 300719)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	Niet toegewezen
GMO Status	Geen genetische modificatie; wildtype CRC-celijn afkomstig van een patiënt uit de HROC Linnebacher-biobank. KRAS wildtype, BRAF wildtype, MSS, CIMP-negatief.

Biomoleculaire gegevens

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

Omgaan met

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L Glucose, w: 2,5 mM L-Glutamine, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM Natriumpyruvaat, w: 1,2 g/L NaHCO ₃ (Cytion artikelnummer 820400a)
Supplements	Vul het medium aan met 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenderen en vervolgens centrifugereren bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.

HROC348 Cellen | 300719

Fluid renewal 2 tot 3 keer per week

Freeze medium Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimeidium (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan -150 °C om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van 37 °C met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij 300 x g om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating Geen

HROC348 Cellen | 300719

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole en moleculaire analyse

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.