

HROC348 Celler | 300719**Generell informasjon****Description**

HROC348 er en human kolorektal karsinomcellelinje som stammer fra en primærsvulst som ble fjernet fra en voksen mannlig pasient diagnostisert med sigmoid kolonkreft. Svulsten ble klassifisert som et moderat avansert adenokarsinom (T3, G3, N2), noe som indikerer betydelig lokal invasjon og lymfeknuteinvolvering, i samsvar med aggressiv tumoradferd. Karsinomet oppsto i sigmoideum, en vanlig anatomisk lokalisasjon for sporadisk kolorektal kreft, og viste mikrosatellittstabilitet (MSS), noe som plasserer den i subtypen kromosomal instabilitet (CIN) i stedet for i den MSI-høyt hypermuterte klassen av kolorektale tumorer.

Molekylær profilering av HROC348 viser villtypestatus for både KRAS og BRAF, noe som tyder på fravær av vanlige aktiverende mutasjoner i disse genene, som ofte er involvert i progresjon av kolorektal kreft og terapiresistens. Denne molekylære bakgrunnen gjør HROC348 spesielt egnet for studier som fokuserer på ikke-mutert RAS/RAF-signalering og dens betydning for tumorvekst, behandlingsrespons og resistensmekanismer. Cellelinjen viser ikke CpG-øy-metyleringsfenotypen (CIMP), noe som ytterligere støtter klassifiseringen innenfor den konvensjonelle (ikke-hypermuterte) undergruppen av kolorektal kreft.

Klinisk var svulsten positiv for lymfeknutemetastaser (LN_pos = 2), men fjerne metastaser (M) ble bare observert én gang, og det ble ikke registrert noe høyresidig koloninvolvering, noe som samsvarer med en venstresidig kolorektal kreftprofil. Disse trekkene, kombinert med MSS-status og molekylære markører, gjør HROC348 til en representativ modell for å studere venstresidig, KRAS/BRAF-viltype, mikrosatellittstabil kolorektalt adenokarsinom. Den har også stor overføringsverdi for preklinisk testing av målrettede terapier og immunmodulerende midler i MSS-svulster, som vanligvis er mindre responsive på immunsjekkpunktblokkade.

Organism Menneskelig**Tissue** Sigmoideum**Disease** Karsinom**Kjennetegn****Age** 77 år**Gender** Mann**Ethnicity** Kaukasisk**Morphology** Epitel-lignende**Growth properties** Vedhengende**Regulatoriske data**

HROC348 Celler | 300719**Citation** HROC348 (Cytion-katalognummer 300719)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**Biomolekylære data****MSI-status** MSS**Håndtering****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glukose, w: 2,5 mM L-glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natriumpyruvat, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (Cytion artikkelnummer 820400a)**Supplements** Suppler mediet med 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspendere cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.**Fluid renewal** 2 til 3 ganger per uke**Freeze medium** Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoundusert stress.

HROC348 Celler | 300719

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

HROC348 Celler | 300719

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.