

HROC348-celler | 300719

Allmän information

Description

HROC348 är en human kolorektal karcinomcellinje som härrör från en primärtumör som avlägsnats från en vuxen manlig patient med diagnosen sigmoid colon cancer. Tumören klassificerades som ett måttligt avancerat adenocarcinom (T3, G3, N2), vilket indikerade betydande lokal invasion och lymfkörtelengagemang, vilket överensstämmer med ett aggressivt tumörbeteende. Karcinomet hade sitt ursprung i sigmoideum, en vanlig anatomisk plats för sporadisk kolorektal cancer, och uppvisade mikrosatellitstabilitet (MSS), vilket gör att den tillhör subtypen kromosomal instabilitet (CIN) snarare än den MSI-högt hypermuterade klassen av kolorektala tumörer.

Molekylär profilering av HROC348 visar vildtypstatus för både KRAS och BRAF, vilket tyder på att det inte finns några vanliga aktiverande mutationer i dessa gener som ofta är inblandade i utvecklingen av kolorektal cancer och terapiresistens. Denna molekylära bakgrund gör HROC348 särskilt lämplig för studier inriktade på icke-muterad RAS/RAF-signaleringsväg och dess betydelse för tumörtillväxt, terapisvar och resistensmekanismer. Cellinjen uppvisar inte fenotypen CpG-ö-metylerare (CIMP), vilket ytterligare stöder dess klassificering inom undergruppen konventionell (icke-hypermuterad) kolorektalcancer.

Kliniskt var tumören positiv för lymfkörtelmetastaser (LN_pos = 2), men fjärrmetastaser (M) noterades endast en gång, och ingen högersidig koloninvolvering registrerades, vilket överensstämmer med en vänstersidig kolorektal cancerprofil. Dessa egenskaper, i kombination med MSS-status och molekylära markörer, gör HROC348 till en representativ modell för att studera vänstersidigt, KRAS/BRAF-vildtypat, mikrosatellitstabil kolorektalt adenokarcinom. Den har också ett översättningsvärde för preklinisk testning av målinriktade behandlingar och immunmodulerande medel i MSS-tumörer, som vanligtvis svarar sämre på blockad av immunkontrollpunkter.

Organism Människan

Tissue Sigmoid kolon

Disease Carcinom

Egenskaper

Age 77 år

Gender Man

Ethnicity Kaukasisk

Morphology Epitelliknande

Growth properties Följsam

HROC348-celler | 300719

Lagstadgade uppgifter

Citation HROC348 (Cytion katalognummer 300719)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

Biomolekylära data

MSI-status MSS

Hantering

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L Glukos, w: 2,5 mM L-Glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM Natriumpyruvat, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820400a)

Supplements Komplettera mediet med 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Ta bort det gamla mediet från de adherenta cellerna och tvätta dem med PBS som saknar kalcium och magnesium. Använd 3-5 ml PBS för T25-kolvar och 5-10 ml för T75-kolvar. Täck sedan cellerna helt med Accutase, använd 1-2 ml för T25-kolvar och 2,5 ml för T75-kolvar. Låt cellerna inkubera i rumstemperatur i 8-10 minuter så att de lossnar. Efter inkubationen, blanda cellerna försiktigt med 10 ml medium för att resuspendera dem och centrifugera sedan vid 300xg i 3 minuter. Kassera supernatanten, resuspendera cellerna i färskt medium och överför dem till nya kolvar som redan innehåller färskt medium.

Fluid renewal 2 till 3 gånger per vecka

Freeze medium Som kryokonservationsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryounducerad stress.

HROC348-celler | 300719

Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfryst vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeshuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid $300 \times g$ i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkanter; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befuktad atmosfär.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

Shipping Conditions

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

HROC348-celler | 300719

Storage Conditions

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik.

För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.