

Células HROC348 | 300719

Informações gerais

Description

A HROC348 é uma linha celular de carcinoma colorrectal humano derivada de um tumor primário ressecado de um doente adulto do sexo masculino a quem foi diagnosticado cancro do cólon sigmoide. O tumor foi classificado como um adenocarcinoma moderadamente avançado (T3, G3, N2), indicando uma invasão local significativa e envolvimento dos nódulos linfáticos, consistente com um comportamento agressivo do tumor. O carcinoma teve origem no cólon sigmoide, um local anatómico comum para o cancro colorrectal esporádico, e apresentava estabilidade de microssatélites (MSS), o que o alinha com o subtipo de instabilidade cromossómica (CIN) e não com a classe de tumores colorrectais com elevada hipermutação MSI.

O perfil molecular do HROC348 mostra o estado de tipo selvagem tanto para KRAS como para BRAF, sugerindo a ausência de mutações activadoras comuns nestes genes que estão frequentemente implicados na progressão do cancro colorrectal e na resistência à terapêutica. Este historial molecular torna a HROC348 particularmente adequada para estudos centrados na sinalização RAS/RAF não mutada e nas suas implicações no crescimento tumoral, na resposta terapêutica e nos mecanismos de resistência. A linha celular não apresenta o fenótipo de metilação de ilhas CpG (CIMP), o que apoia ainda mais a sua classificação no subgrupo de cancro colorrectal convencional (não hipermutado).

Clinicamente, o tumor era positivo para metástases nos gânglios linfáticos (LN_pos = 2), mas só se observou uma metástase à distância (M) e não se registou qualquer envolvimento do cólon direito, o que é consistente com um perfil de cancro colorrectal do lado esquerdo. Estas características, combinadas com o estatuto de MSS e os marcadores moleculares, posicionam o HROC348 como um modelo representativo para o estudo do adenocarcinoma colorrectal do lado esquerdo, do tipo selvagem KRAS/BRAF, estável por microssatélites. Também oferece valor translacional para testes pré-clínicos de terapias direcionadas e agentes imunomoduladores em tumores MSS, que são tipicamente menos reactivos ao bloqueio do ponto de controlo imunitário.

Organism Humano

Tissue Cólon sigmoide

Disease Carcinoma

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

Caraterísticas

Age 77 anos

Gender Masculino

Células HROC348 | 300719**Ethnicity** Caucasiano**Morphology** De tipo epitelial**Cell type** Epithelial cells**Growth properties** Aderente**Dados regulamentares****Citation** HROC348 (número de catálogo Cytion 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.**Dados biomoleculares****MSI-status** MSS**Manuseamento****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), com: 3,1 g/L de glucose, com: 2,5 mM de L-Glutamina, com: 15 mM de HEPES, com: 0,5 mM de piruvato de sódio, com: 1,2 g/L de NaHCO₃ (número de artigo Cytion 820400a)**Supplements** Completar o meio com 10% de FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e, nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.

Células HROC348 | 300719**Fluid renewal** 2 a 3 vezes por semana**Freeze medium** Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.**Thawing and Culturing Cells**

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfetando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfetado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a 300 x g durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO_2 , atmosfera humidificada.**Flask Coating** Nenhum

Células HROC348 | 300719

Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspeções visuais diárias.