

**Células HROC222 T1 M2 | 300859****Informações gerais****Description**

HROC222 T1 M2 é uma linha celular de adenocarcinoma colorretal humano estabelecida na coleção de modelos HROC (Hansestadt Rostock Colorectal Cancer) a partir de um tumor primário ressecado de um paciente adulto. A designação «T1» indica que a amostra foi obtida no primeiro momento cirúrgico, enquanto «M2» denota o modelo in vitro correspondente gerado a partir deste tumor. A plataforma HROC integra biobancos abrangentes, anotação molecular padronizada e estabelecimento paralelo de xenoenxertos derivados de pacientes (PDX) e linhas celulares permanentes de baixa passagem, permitindo modelos de investigação translacional clinicamente anotados.

A geração do HROC222 T1 M2 seguiu procedimentos padronizados envolvendo a dissociação mecânica do tecido tumoral recém-ressecado, a preparação de suspensões de células únicas e a semeadura em placas de cultura revestidas com colagénio em meio de cultura de células tumorais definido, suplementado com glutamina, antibióticos e antimicóticos. Em toda a coorte HROC, linhas celulares primárias permanentes de cancro colorretal foram estabelecidas com sucesso a partir de aproximadamente 13% das amostras testadas. A análise estatística identificou que a classificação tumoral mais elevada estava significativamente associada ao estabelecimento bem-sucedido da linha celular primária, enquanto o estado nodal avançado mostrou uma tendência positiva. Na análise multivariada em toda a coleção, o envolvimento nodal emergiu como um preditor independente do sucesso do estabelecimento do modelo.

A coleção HROC abrange todos os principais subtipos moleculares de carcinoma colorretal, incluindo instabilidade cromossômica (CIN), fenótipo metilador da ilha CpG (CIMP), tumores estáveis em microssatélites (MSS) e instabilidade elevada em microssatélites (MSI-H), bem como diversos antecedentes mutacionais que afetam genes impulsadores importantes, como KRAS, BRAF, TP53, APC e PIK3CA. O HROC222 T1 M2 foi gerado dentro desta estrutura rigorosamente caracterizada, permitindo a integração com dados clínico-patológicos e moleculares detalhados e, quando disponível, material PDX correspondente. Como um modelo de carcinoma colorretal de baixa passagem derivado de pacientes, o HROC222 T1 M2 é adequado para investigações da biologia tumoral, relações genótipo-fenótipo e testes terapêuticos pré-clínicos dentro da pesquisa oncológica de precisão.

**Organism** Humano**Tissue** Cólon transversal**Disease** Adenocarcinoma**Características****Age** 79 anos**Gender** Masculino**Ethnicity** Caucasiano

**Células HROC222 T1 M2 | 300859**

**Growth properties** Aderente

**Dados regulamentares**

**Citation** HROC222 T1 M2 (número de catálogo Cytion 300859)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_VQ93

**Dados biomoleculares****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 NaHCO<sub>3</sub> (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.

**Fluid renewal** A cada 3 a 5 dias

**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 frio.

## Células HROC222 T1 M2 | 300859

### 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  $-150^{\circ}\text{C}$  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  $37^{\circ}\text{C}$  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  $300 \times g$  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

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , atmosfera humidificada.

### Flask Coating

Para uma fixação e viabilidade óptimas após a descongelação, recomendamos a utilização de **frascos ou placas revestidos com colagénio**.

### Freezing Procedure

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

## Células HROC222 T1 M2 | 300859

### 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 inspecções visuais diárias.