

Células HROC32 | 300818**Informações gerais**

Description	Esta é uma linha celular de uma série de linhas celulares tumorais que foram estabelecidas pelo PD Dr. Michael Linnebacher a partir de espécimes de ressecção primária de CRC desde 2006.
Organism	Humano
Tissue	Cólon ascendente, UICC IV
Disease	Adenocarcinoma primário, estágio TNM T4N2M1R0L0V1 com classificação G2, Lk(n) + 9, Σ Lk(n) 14
Synonyms	HROC32P

Caraterísticas

Age	82 anos
Gender	Feminino
Ethnicity	Caucasiano
Morphology	De tipo epitelial
Growth properties	Aderente

Dados regulamentares

Citation	HROC32 (número de catálogo Cytion 300818)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1D06

Dados biomoleculares

Protein expression	PTEN
---------------------------	------

Células HROC32 | 300818

Antigen expression CD15 +, CD24 +, CD44 +, CD55 +, CD58 +, CD50 +, CD 54 +, CD66acde +, CD71 +, CD102 +, CD326 +, CD80 -, CD86 -, EpCAM +, HLA-A2 +, MHC I +, MHC II + (pré-tratamento com IFN-g), Her2/neu +

Tumorigenic Sim, em ratinhos nus imunossuprimidos

Viruses Isento de vírus patogênicos humanos SV40, JC/BK, HBV, HCV, HIV.

MSI-status MSS

Mutational profile APCwt, p53R282W, K-RasG12A, N-Raswt, H-Raswt SNP rs12628 no códon 27, PIK3CAst, BRafwt

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

Doubling time 30 horas

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.

Seeding density 2×10^4 células/cm²

Fluid renewal A cada 3 a 5 dias

Post-Thaw Recovery 1 a 2 semanas

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.

Células HROC32 | 300818**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 $300 \times g$ 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°C , 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

Flask Coating

Nenhum

**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.

Células HROC32 | 300818**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 e Análise Molecular**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.

Alelos HLA

A*: '01:01, '02:01
B*: '08:01, '51:01:00
C*: '07:01, '14:02
DRB1*: '03:01, '11:01
DQA1*: '01:02:01, '05:01:01
DQB1*: '02:01, '03:01
DPB1*: '01:01:01, '02:01:02
E: '01:01, '01:03