

Células HROC278 T0 M1 | 300835**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	Colon ascendens, UICC IV, Estabelecido a partir de um xenoinxerto derivado de um doente de tecido CRC primário (Colon ascendens, estágio TNM T4N2M1R0L1V1, grau G3, Lk(n) +19, Σ Lk(n) 29).
Disease	Adenocarcinoma
Synonyms	HROC278

Caraterísticas

Age	76 anos
Gender	Feminino
Ethnicity	Caucasiano
Morphology	De tipo epitelial
Growth properties	Aderente

Dados regulamentares

Citation	HROC278 T0 M1 (número de catálogo Cytion 300835)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1U89

Dados biomoleculares

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

Células HROC278 T0 M1 | 300835

Tumorigenic	Sim, em ratinhos nus imunossuprimidos
Víruses	Isto de vírus patogénicos humanos SV40, JC/BK, HBV, HCV, HIV.
MSI-status	MSI-L
Mutational profile	B-RAFV600E APCwt, p53wt, K-Raswt, N-Raswt, H-Raswt, PIK3CAwt

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 ₃ (número de artigo Cytion 820400a)
-----------------------	--

Supplements	Completar o meio com 10% de FBS
--------------------	---------------------------------

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

Doubling time	43 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/cm ²
------------------------	---

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

Post-Thaw Recovery	Poucos 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 crio.
----------------------	---

Células HROC278 T0 M1 | 300835

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, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado 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

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°C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Células HROC278 T0 M1 | 300835

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.

Alelos HLA

A*: '03:01:01, '25:01:01
B*: '07:02:01, '18:01:01
C*: '07:02:01, '12:03:01
DRB1*: '04:01:01
DQA1*: '03:01:01
DQB1*: '03:02:01
DPB1*: '02:01:02
E: '01:01, '01:03