

**Células HROC300 T2 M1 | 300866****Informações gerais****Description**

HROC300 T2 M1 é uma linha celular de carcinoma colorretal humano derivada de uma amostra de tumor primário ressecado de um paciente adulto dentro da coleção de modelos HROC (Hansestadt Rostock Colorectal Cancer). A designação «T2» indica que o tumor foi obtido numa segunda cirurgia, enquanto «M1» denota o modelo in vitro correspondente estabelecido a partir desta amostra. A plataforma HROC integra um biobanco abrangente com a geração padronizada de xenoenxertos derivados de pacientes (PDX) e linhas celulares permanentes de baixa passagem, permitindo modelos tumorais anotados molecularmente a partir de casos consecutivos de cancro colorretal.

O estabelecimento do HROC300 T2 M1 seguiu um protocolo padronizado envolvendo a dissociação mecânica do tecido tumoral recém-ressecado, a filtração para obter 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 foram geradas a partir de aproximadamente 13% das amostras de carcinoma colorretal tentadas, com o estabelecimento bem-sucedido correlacionado na análise univariada com maior classificação tumoral e estado nodal avançado. A análise multivariada identificou o envolvimento nodal como um preditor independente do estabelecimento bem-sucedido do modelo in vitro. Essas descobertas refletem o enriquecimento de fenótipos biologicamente agressivos entre as culturas adaptadas com sucesso.

Dentro da coleção mais ampla do HROC, os modelos abrangem todos os principais subtipos moleculares de carcinoma colorretal, incluindo instabilidade cromossômica (CIN), fenótipo metilador da ilha CpG (CIMP), tumores estáveis em microssatélites (MSS) e tumores com instabilidade elevada em microssatélites (MSI-H), bem como diversos antecedentes mutacionais que afetam genes como KRAS, BRAF, TP53, APC e PIK3CA. O HROC300 T2 M1 foi gerado neste contexto rigorosamente anotado, permitindo a integração com dados clínico-patológicos correspondentes e, quando disponível, material PDX correspondente. Como um modelo de carcinoma colorretal derivado de paciente de baixa passagem, o HROC300 T2 M1 é adequado para estudos de biologia tumoral, associações genótipo-fenótipo e testes terapêuticos pré-clínicos dentro de uma estrutura de oncologia de precisão.

**Organism**

Humano

**Tissue**

Colorrectal

**Disease**

Adenocarcinoma, estágio TNM T4aN1bM1R2L0V1, classificação G2, Lk(n) + 3, Σ Lk(n) 22

**Caraterísticas****Age**

73 anos

**Gender**

Masculino

**Ethnicity**

Caucasiano

**Células HROC300 T2 M1 | 300866**

**Growth properties** Aderente

**Dados regulamentares**

**Citation** HROC300 T2 M1 (número de catálogo Cytion 300866)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_VQ94

**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 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 crio.

## Células HROC300 T2 M1 | 300866

### 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, 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

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , 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  $-78^{\circ}\text{C}$  durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

## Células HROC300 T2 M1 | 300866

### 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.