

## Células HROC32 T3 M1 | 300819

## Informações gerais

<b>Description</b>	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. Esta linha celular foi derivada de um tumor em fase tardia de HROC32.
<b>Organism</b>	Humano
<b>Tissue</b>	Cólon ascendente, UICC IV, estabelecido a partir de um tecido de CRC primário de xenoinxerto derivado de um doente (Cólon ascendente, estágio TNM T4N2M1R0L0V1, classificação G2, Lk(n) + 9, Σ Lk(n) 14)
<b>Disease</b>	Adenocarcinoma
<b>Synonyms</b>	HROC32x

## Caraterísticas

<b>Age</b>	82 anos
<b>Gender</b>	Feminino
<b>Ethnicity</b>	Caucasiano
<b>Morphology</b>	De tipo epitelial
<b>Growth properties</b>	Aderente

## Dados regulamentares

<b>Citation</b>	HROC32 T3 M1 (número de catálogo Cytion 300819)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_1D07

## Dados biomoleculares

## Células HROC32 T3 M1 | 300819

<b>Protein expression</b>	PTEN
<b>Antigen expression</b>	CD15 +, CD24 +, CD44 +, CD55 +, CD58 +, CD50 +, CD 54 +, CD66acde +, CD71 +, CD102 +, CD326 +, CD80 -, CD86-, EpCAM +, HLA-A2 +
<b>Tumorigenic</b>	Sim, em ratinhos nus imunossuprimidos
<b>Viruses</b>	Isto de vírus patogénicos humanos SV40, JC/BK, HBV, HCV, HIV.
<b>Ploidy status</b>	Aneuploide
<b>MSI-status</b>	MSS
<b>Mutational profile</b>	APCwt, p53R282W, K-RasG12A, N-Raswt, H-Raswt SNP rs12628 no códao 27, PIK3CAst, BRafwt

## Manuseamento

<b>Culture Medium</b>	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)
<b>Supplements</b>	Completar o meio com 10% de FBS
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Doubling time</b>	30 horas
<b>Subculturing</b>	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.
<b>Seeding density</b>	$2 \times 10^4$ células/cm <sup>2</sup>
<b>Fluid renewal</b>	A cada 3 a 5 dias
<b>Post-Thaw Recovery</b>	1 a 2 semanas

## Células HROC32 T3 M1 | 300819

### 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%  $\text{CO}_2$ , atmosfera humidificada.

### Flask Coating

Nenhum

## Células HROC32 T3 M1 | 300819

### 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.