

Células HROC300 T2 M1 | 300866

Información general

Description

HROC300 T2 M1 es una línea celular de carcinoma colorrectal humano derivada de una muestra de tumor primario extirpada de un paciente adulto, perteneciente a la colección modelo HROC (Hansestadt Rostock Colorectal Cancer). La designación «T2» indica que el tumor se obtuvo en una segunda intervención quirúrgica, mientras que «M1» denota el modelo in vitro correspondiente establecido a partir de esta muestra. La plataforma HROC integra un biobanco integral con la generación estandarizada de xenoinjertos derivados de pacientes (PDX) y líneas celulares permanentes de bajo número de pases, lo que permite obtener modelos tumorales con anotaciones moleculares a partir de casos consecutivos de cáncer colorrectal.

El establecimiento de HROC300 T2 M1 siguió un protocolo estandarizado que incluyó la disociación mecánica del tejido tumoral recién resecado, la filtración para obtener suspensiones de células individuales y la siembra en placas de cultivo recubiertas de colágeno en un medio de cultivo de células tumorales definido, suplementado con glutamina, antibióticos y antimicóticos. En toda la cohorte HROC, se generaron líneas celulares primarias permanentes a partir de aproximadamente el 13 % de las muestras de carcinoma colorrectal analizadas, y el establecimiento exitoso se correlacionó, en el análisis univariante, con un grado tumoral más alto y un estado ganglionar avanzado. El análisis multivariante identificó la afectación ganglionar como un predictor independiente del establecimiento exitoso del modelo in vitro. Estos hallazgos reflejan el enriquecimiento de fenotipos biológicamente agresivos entre los cultivos adaptados con éxito.

Dentro de la colección más amplia de HROC, los modelos abarcan todos los subtipos moleculares principales del carcinoma colorrectal, incluyendo la inestabilidad cromosómica (CIN), el fenotipo de metilación de islas CpG (CIMP), los tumores con estabilidad de microsatélites (MSS) y los de alta inestabilidad de microsatélites (MSI-H), así como diversos antecedentes mutacionales que afectan genes como KRAS, BRAF, TP53, APC y PIK3CA. El HROC300 T2 M1 se generó en este contexto rigurosamente anotado, lo que permite su integración con datos clínico-patológicos correspondientes y, cuando estén disponibles, con el material PDX correspondiente. Como modelo de carcinoma colorrectal derivado de pacientes y de bajo número de pases, el HROC300 T2 M1 es adecuado para estudios de biología tumoral, asociaciones genotipo-fenotipo y pruebas terapéuticas preclínicas dentro de un marco de oncología de precisión.

Organism

Humano

Tissue

Colorrectal

Disease

Adenocarcinoma, estadio TNM T4aN1bM1R2L0V1, grado G2, Lk(n) + 3, Σ Lk(n) 22

Metastatic site

Hay metástasis a distancia (TNM M1; estadio T4aN1bM1R2)

Applications

Investigación sobre el cáncer colorrectal; adenocarcinoma colorrectal MSS; biobanco HROC Linnebacher; sensibilidad a los fármacos; modelización del cáncer colorrectal en estadio avanzado; biología tumoral

Características

Age

73 años

Células HROC300 T2 M1 | 300866**Gender** Hombre**Ethnicity** caucásico**Morphology** De tipo epitelial**Cell type** Células epiteliales**Growth properties** Adherente**Datos normativos****Citation** HROC300 T2 M1 (número de catálogo de Cytion 300866)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_VQ94**GMO Status** Sin modificación genética; línea celular de CCR de tipo silvestre derivada de un paciente (biobanco HROC Linnebacher).**Datos biomoleculares****MSI-status** MSS**Manejo****Culture Medium** DMEM:F12 de Ham (1:1), p/v: 3,1 g/L de glucosa, p/v: 2,5 mM de L-glutamina, p/v: 15 mM de HEPES, p: 0,5 mM de piruvato de sodio, p: 1,2 g/L de NaHCO₃ (número de artículo de Cytion 820400a)**Supplements** Añade al medio un 10 % de FBS**Dissociation Reagent** Accutase

Células HROC300 T2 M1 | 300866

Subculturing Retira el medio usado de las células adheridas y lávalas con PBS sin calcio ni magnesio. Para los frascos T25, usa de 3 a 5 ml de PBS, y para los frascos T75, usa de 5 a 10 ml. Luego, cubra las células por completo con Accutase, utilizando de 1 a 2 ml para los frascos T25 y 2,5 ml para los frascos T75. Deje que las células se incuben a temperatura ambiente durante 8 a 10 minutos para desprenderse. Después de la incubación, mezcla suavemente las células con 10 ml de medio para resuspenderlas; luego, centrifuga a 300xg durante 3 minutos. Deseche el sobrenadante, resuspenda las células en medio fresco y transfíralas a frascos nuevos que ya contengan medio fresco.

Fluid renewal Cada 3 a 5 días

Freeze medium Como medio de criopreservación, utilizamos un medio de crecimiento completo (que incluye FBS) + 10 % de DMSO para garantizar una viabilidad adecuada tras la descongelación, o CM-1 (número de catálogo de Cytion 800100), que incluye osmoprotectores y estabilizadores metabólicos optimizados para mejorar la recuperación y reducir el estrés inducido por la criopreservación.

Thawing and Culturing Cells

1. Verifique que el vial se mantenga profundamente congelado al momento de la entrega, ya que las células se envían en hielo seco para mantener temperaturas óptimas durante el transporte.
2. Al recibirlo, almacene el criovial inmediatamente a temperaturas inferiores a -150 °C para garantizar la preservación de la integridad celular, o bien continúe con el paso 3 si se requiere un cultivo inmediato.
3. Para el cultivo inmediato, descongele rápidamente el vial sumergiéndolo en un baño de agua a 37 °C con agua limpia y un agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40 a 60 segundos hasta que quede un pequeño trozo de hielo.
4. Realice todos los pasos posteriores en condiciones estériles bajo una cabina de flujo laminar, desinfectando el criovial con etanol al 70 % antes de abrirlo.
5. Abra con cuidado el vial desinfectado y transfiera la suspensión celular a un tubo de centrifuga de 15 ml que contenga 8 ml de medio de cultivo a temperatura ambiente, mezclando suavemente.
6. Centrifugue la mezcla a 300 x g durante 3 minutos para separar las células y deseche con cuidado el sobrenadante que contenga medio de congelación residual.
7. Resuspende suavemente el sedimento celular en 10 ml de medio de cultivo fresco. Para las células adherentes, divide la suspensión entre dos frascos de cultivo T25; para los cultivos en suspensión, transfiere todo el medio a un solo frasco T25 para promover una interacción y un crecimiento celular efectivos.
8. Siga los protocolos de subcultivo establecidos para el crecimiento y mantenimiento continuos de la línea celular, asegurando resultados experimentales confiables.

Células HROC300 T2 M1 | 300866

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % de CO₂, atmósfera humidificada.

**Shipping
Conditions**

Las líneas celulares criopreservadas se envían en hielo seco, en un embalaje aislante validado que contiene suficiente refrigerante para mantener una temperatura de aproximadamente -78 °C durante todo el transporte. Al recibir el envío, revise el contenedor de inmediato y traslade los viales sin demora al lugar de almacenamiento adecuado.

**Storage
Conditions**

Para la conservación a largo plazo, coloque los viales en nitrógeno líquido en fase de vapor a una temperatura de entre -150 y -196 °C, aproximadamente. El almacenamiento a -80 °C solo es aceptable como un paso intermedio breve antes de transferirlos al nitrógeno líquido.

Control de calidad y análisis molecular

Sterility

Se descarta la contaminación por micoplasmas mediante ensayos basados en PCR y métodos de detección de micoplasmas basados en luminiscencia.

Para garantizar que no haya contaminación bacteriana, fúngica o por levaduras, los cultivos celulares se someten a inspecciones visuales diarias.