

Células HCT-8 (HRT-18) | 300210**Informações gerais****Description**

As células HCT-8, também conhecidas como células de adenocarcinoma colorretal ileocecal humano, são uma linhagem celular epitelial originalmente derivada de um paciente do sexo masculino, de etnia caucasiana, de 67 anos, com adenocarcinoma ileocecal. A linhagem celular HCT-8 foi estabelecida no final da década de 1960 e é amplamente utilizada na pesquisa sobre o câncer, particularmente no estudo da patogênese, metástase e resposta ao tratamento do câncer colorretal.

Morfológicamente, as células HCT-8 são de tipo epitelial e apresentam um padrão de crescimento em monocamada com forma poligonal. Elas possuem a capacidade de crescer tanto em culturas aderentes quanto em culturas semissuspensas, o que é característico de alguns estágios de transição da metástase das células cancerosas. Essa característica as torna particularmente úteis para estudos relacionados à invasão e migração das células cancerosas.

Genotipicamente, as células HCT-8 são hipertriploides, contendo várias aberrações cromossômicas comuns em carcinomas colorretais, incluindo mutações e deleções relevantes para a progressão do câncer e os mecanismos de resistência. Esse perfil genético justifica seu uso em estudos oncológicos, especialmente aqueles focados nas vias genéticas envolvidas na tumorigênese e na resistência a medicamentos.

Pesquisas que utilizam as células HCT-8 têm contribuído significativamente para a compreensão da biologia do câncer colorretal, incluindo a elucidação de vias moleculares envolvidas na proliferação de células cancerosas, na apoptose e na quimiorresistência. A linhagem celular continua sendo um modelo essencial para investigar a eficácia de novos agentes terapêuticos e para explorar os mecanismos moleculares subjacentes ao câncer colorretal.

Organism Humano**Tissue** Reto**Disease** Adenocarcinoma**Synonyms** HCT 8, HCT8**Características****Age** 67 anos**Gender** Masculino**Morphology** De tipo epitelial**Growth properties** Aderente

Células HCT-8 (HRT-18) | 300210**Dados regulatórios****Citation** HCT-8 (número de catálogo da Cytion 300210)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_2478**Dados biomoleculares****Antigen expression** CDx (+/-), CDy (-),**Isoenzymes** AK-1, 1, ES-D, 1-2, GLO-1, 2, G6PD, B, PGM1, 1, PGM3, 1, Me-2, 1**Tumorigenic** Em camundongos nude**Viruses** Negativo para a transcriptase reversa**Products** Antígeno carcinoembrionário (CEA) 0,5 ng/10 exp6 células/10 dias, fosfatase alcalina, queratina**Mutational profile** As células HRT-18 apresentam uma mutação no códon 13 do gene Kras: GGC (Wt Gly) > GAC (Asp)**Manuseio****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), p/v: 3,1 g/L de glicose, p/v: 2,5 mM de L-glutamina, p/v: 15 mM de HEPES, peso: 0,5 mM de piruvato de sódio, peso: 1,2 g/L de NaHCO₃ (número de artigo da Cytion 820400a)**Supplements** Adicione 10% de FBS ao meio**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 15 horas

Células HCT-8 (HRT-18) | 300210

Subculturing Remova o meio antigo das células aderentes e lave-as com PBS sem cálcio nem magnésio. Para frascos T25, use 3 a 5 ml de PBS; para frascos T75, use 5 a 10 ml. Em seguida, cubra as células completamente com Accutase, utilizando 1 a 2 ml para frascos T25 e 2,5 ml para frascos T75. Deixe as células incubarem à temperatura ambiente por 8 a 10 minutos para que se desprendam. Após a incubação, misture delicadamente as células com 10 ml de meio para ressuspender, depois centrifugue a 300xg por 3 minutos. Descarte o sobrenadante, ressuspenda as células em meio fresco e transfira-as para novos frascos que já contenham meio fresco.

Seeding density 2 a 4×10^4 células/cm²

Fluid renewal 2 a 3 vezes por semana

Post-Thaw Recovery Rápido

Freeze medium Como meio de criopreservação, utilizamos meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% de DMSO para garantir viabilidade adequada após o descongelamento, ou CM-1 (número de catálogo da Cytion 800100), que inclui osmoprotetores e estabilizadores metabólicos otimizados para melhorar a recuperação e reduzir o estresse induzido pela criopreservação.

Células HCT-8 (HRT-18) | 300210

Thawing and Culturing Cells

1. Verifique se o frasco permanece profundamente congelado no momento da entrega, pois as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após o recebimento, armazene o criovial imediatamente a temperaturas abaixo de $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ para garantir a preservação da integridade celular ou prossiga para a etapa 3, caso seja necessária a cultura imediata.
3. Para cultura imediata, descongele rapidamente o frasco imergindo-o em um banho-maria a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente por 40 a 60 segundos até que reste apenas um pequeno pedaço de gelo.
4. Realize todas as etapas subsequentes em condições estéreis em uma cabine de fluxo, desinfetando o criovial com etanol a 70% antes de abri-lo.
5. Abra cuidadosamente o frasco desinfetado e transfira a suspensão celular para um tubo de centrifuga de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando delicadamente.
6. Centrifugue a mistura a $300 \times g$ por 3 minutos para separar as células e descarte cuidadosamente o sobrenadante contendo o meio de congelamento residual.
7. Ressuspender suavemente o sedimento celular em 10 ml de meio de cultura fresco. Para células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; para culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 a fim de promover a interação e o crescimento celular eficazes.
8. Siga os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento contínuo e a manutenção da linhagem celular, garantindo resultados experimentais confiáveis.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% de CO_2 , atmosfera umidificada.

Shipping Conditions

As linhagens celulares criopreservadas são enviadas em gelo seco, em embalagens isoladas e validadas, com refrigerante suficiente para manter a temperatura em aproximadamente $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante todo o transporte. Ao receber a remessa, inspecione o recipiente imediatamente e transfira os frascos sem demora para o local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para preservação a longo prazo, coloque os frascos em nitrogênio líquido em fase de vapor a uma temperatura entre aproximadamente -150 e $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$. O armazenamento a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ é aceitável apenas como uma etapa intermediária de curta duração antes da transferência para o nitrogênio líquido.

Controle de Qualidade e Análise Molecular

Células HCT-8 (HRT-18) | 300210

Sterility

A contaminação por micoplasma é descartada por meio de ensaios baseados em PCR e de métodos de detecção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não haja contaminação por bactérias, fungos ou leveduras, as culturas celulares são submetidas a inspeções visuais diárias.