

**Células HROC32 | 300818****Informações gerais**

|                    |                                                                                                                                                                                                 |
|--------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Description</b> | Esta é uma das linhas celulares de uma série de linhas celulares tumorais que foram estabelecidas pelo PD Dr. Michael Linnebacher a partir de amostras de ressecção de CCR primário desde 2006. |
| <b>Organism</b>    | Humano                                                                                                                                                                                          |
| <b>Tissue</b>      | Cólon ascendente, UICC IV                                                                                                                                                                       |
| <b>Disease</b>     | Adenocarcinoma primário, estágio TNM T4N2M1R0L0V1, grau G2, Lk(n) + 9, Σ Lk(n) 14                                                                                                               |
| <b>Synonyms</b>    | HROC32P                                                                                                                                                                                         |

**Características**

|                          |                   |
|--------------------------|-------------------|
| <b>Age</b>               | 82 anos           |
| <b>Gender</b>            | Mulher            |
| <b>Ethnicity</b>         | caucasiano        |
| <b>Morphology</b>        | De tipo epitelial |
| <b>Growth properties</b> | Aderente          |

**Dados regulatórios**

|                             |                                              |
|-----------------------------|----------------------------------------------|
| <b>Citation</b>             | HROC32 (número de catálogo da Cytion 300818) |
| <b>Biosafety level</b>      | 1                                            |
| <b>NCBI_TaxID</b>           | 9606                                         |
| <b>CellosaurusAccession</b> | CVCL_1D06                                    |

**Dados biomoleculares**

|                           |      |
|---------------------------|------|
| <b>Protein expression</b> | PTEN |
|---------------------------|------|

## Células HROC32 | 300818

**Antigen expression** CD15+, CD24+, CD44+, CD55+, CD58+, CD50+, CD54+, CD66acde+, CD71+, CD102+, CD326+, CD80-, CD86 -, EpCAM+, HLA-A2+, MHC I+, MHC II+ (pré-tratado com IFN- $\gamma$ ), Her2/neu+

**Tumorigenic** Sim, em camundongos nude imunossuprimidos

**Viruses** Isento dos vírus patogênicos para o ser humano SV40, JC/BK, HBV, HCV e HIV.

**MSI-status** MSS

**Mutational profile** APCwt, p53R282W, K-RasG12A, N-Raswt, H-Raswt (SNP rs12628 no códon 27), PIK3CAst, BRafwt

## 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 NaHCO<sub>3</sub> (número de artigo da Cytion 820400a)

**Supplements** Adicione 10% de FBS ao meio

**Dissociation Reagent** Accutase

**Doubling time** 30 horas

**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, ressuspense as células em meio fresco e transfira-as para novos frascos que já contenham meio fresco.

**Seeding density**  $2 \times 10^4$  células/cm<sup>2</sup>

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

**Post-Thaw Recovery** 1 a 2 semanas

**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 HROC32 | 300818

### 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 °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 °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 x 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 °C, 5% de CO<sub>2</sub>, 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 °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 °C. O armazenamento a -80 °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 HROC32 | 300818**

**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.