

Células HROC300 T2 M1 | 300866

Informações gerais

Description

HROC300 T2 M1 é uma linhagem celular de carcinoma colorretal humano derivada de uma amostra de tumor primário ressecado de um paciente adulto, pertencente à coleção modelo HROC (Hansestadt Rostock Colorectal Cancer). A designação “T2” indica que o tumor foi obtido em um segundo momento cirúrgico, enquanto “M1” denota o modelo in vitro correspondente estabelecido a partir dessa amostra. A plataforma HROC integra um biobanco abrangente com a geração padronizada de xenoinxertos derivados de pacientes (PDX) e linhagens celulares permanentes de baixa passagem, possibilitando modelos tumorais com anotação molecular a partir de casos consecutivos de câncer 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 colágeno, 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 submetidas à tentativa, com o estabelecimento bem-sucedido se correlacionando, na análise univariada, com maior grau tumoral e estado linfonodal avançado. A análise multivariada identificou o envolvimento linfonodal como um preditor independente do estabelecimento bem-sucedido do modelo in vitro. Esses achados 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 do carcinoma colorretal, incluindo instabilidade cromossômica (CIN), fenótipo de metilação de ilhas CpG (CIMP), tumores com microssatélites estáveis (MSS) e com alta instabilidade de microssatélites (MSI-H), bem como diversos contextos mutacionais que afetam genes como KRAS, BRAF, TP53, APC e PIK3CA. O HROC300 T2 M1 foi gerado nesse contexto rigorosamente anotado, permitindo a integração com dados clínico-patológicos correspondentes e, quando disponível, com o material PDX correspondente. Por ser um modelo de carcinoma colorretal derivado de paciente com poucas passagens, 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

Colorretal

Disease

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

Metastatic site

Presença de metástases à distância (TNM M1; estágio T4aN1bM1R2)

Applications

Pesquisa sobre câncer colorretal; adenocarcinoma colorretal MSS; biobanco HROC Linnebacher; sensibilidade a medicamentos; modelagem de câncer colorretal em estágio avançado; biologia tumoral

Características

Age

73 anos

Células HROC300 T2 M1 | 300866**Gender** Masculino**Ethnicity** caucasiano**Morphology** De tipo epitelial**Cell type** Células epiteliais**Growth properties** Aderente**Dados regulatórios****Citation** HROC300 T2 M1 (número de catálogo da Cytion 300866)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_VQ94**GMO Status** Sem modificação genética; linhagem celular de CCR do tipo selvagem derivada de paciente (biobanco HROC Linnebacher).**Dados biomoleculares****MSI-status** MSS**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

Células HROC300 T2 M1 | 300866

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.

Fluid renewal A cada 3 a 5 dias

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.

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 CO₂, atmosfera umidificada.

Células HROC300 T2 M1 | 300866

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

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.