

Células HROC277Met2 | 300848

Informações gerais

Description	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.
Organism	Humano
Tissue	Colorretal
Disease	Adenocarcinoma
Metastatic site	Fígado, metástase de tecido de CCR primário (cólon-ceco, estágio TNM T4N2M1R0L0V1, grau G2, Lk(n) +0, Σ Lk(n) 12)

Características

Age	78 anos
Gender	Masculino
Ethnicity	caucasiano
Morphology	De tipo epitelial
Growth properties	Aderente

Dados regulatórios

Citation	HROC277Met2 (número de catálogo da Cytion 300848)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1U88

Dados biomoleculares

Protein expression	PTEN-
---------------------------	-------

Células HROC277Met2 | 300848

Tumorigenic	Sim, em camundongos nude imunossuprimidos
Víruses	Isento dos vírus patogênicos para o ser humano SV40, JC/BK, HBV, HCV e HIV.
MSI-status	MSS
Mutational profile	K-Rasmut, N-Raswt, H-Raswt, PIK3CAwt, B-Rafwt

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 ₃ (número de artigo da Cytion 820400a)
Supplements	Adicione 10% de FBS ao meio
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	29 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, ressuspenda as células em meio fresco e transfira-as para novos frascos que já contenham meio fresco.
Seeding density	2×10^4 células/cm ²
Fluid renewal	A cada 3 a 5 dias
Post-Thaw Recovery	Alguns 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.

Células HROC277Met2 | 300848**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.

**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 HROC277Met2 | 300848

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.