HROC348

300719

INFORMAÇÕES GERAIS

Descrição

A HROC348 é uma linha celular de carcinoma colorrectal humano derivada de um tumor primário ressecado de um doente adulto do sexo masculino a quem foi diagnosticado cancro do cólon sigmoide. O tumor foi classificado como um adenocarcinoma moderadamente avançado (T3, G3, N2), indicando uma invasão local significativa e envolvimento dos nódulos linfáticos, consistente com um comportamento agressivo do tumor. O carcinoma teve origem no cólon sigmoide, um local anatómico comum para o cancro colorrectal esporádico, e apresentava estabilidade de microssatélites (MSS), o que o alinha com o subtipo de instabilidade cromossómica (CIN) e não com a classe de tumores colorrectais com elevada hipermutação MSI.
O perfil molecular do HROC348 mostra o estado de tipo selvagem tanto para o KRAS como para o BRAF, sugerindo a ausência de mutações activadoras comuns nestes genes que estão frequentemente implicados na progressão do cancro colorrectal e na resistência à terapêutica. Este historial molecular torna a HROC348 particularmente adequada para estudos centrados na sinalização RAS/RAF não mutada e nas suas implicações no crescimento tumoral, na resposta terapêutica e nos mecanismos de resistência. A linha celular não apresenta o fenótipo de metilação de ilhas CpG (CIMP), o que apoia ainda mais a sua classificação no subgrupo de cancro colorrectal convencional (não hipermutado).
Clinicamente, o tumor era positivo para metástases nos gânglios linfáticos (LN_pos = 2), mas só se observou uma metástase à distância (M) e não se registou qualquer envolvimento do cólon direito, o que é consistente com um perfil de cancro colorrectal do lado esquerdo. Estas caraterísticas, combinadas com o estatuto de MSS e os marcadores moleculares, posicionam o HROC348 como um modelo representativo para o estudo do adenocarcinoma colorrectal do lado esquerdo, do tipo selvagem KRAS/BRAF, estável por microssatélites. Também oferece valor translacional para testes pré-clínicos de terapias direcionadas e agentes imunomoduladores em tumores MSS, que são tipicamente menos reactivos ao bloqueio do ponto de controlo imunitário.

Tecido	Cólon sigmoide
Doença	Carcinoma
Local da metástase	Não relatado (adenocarcinoma do cólon sigmóide primário; sem metástases à distância confirmadas no momento da recolha da amostra)

Aplicações

Investigação sobre o cancro colorretal; biologia do cancro colorretal (CCR) de tipo MSS com KRAS/BRAF de tipo selvagem; modelação do cancro colorretal do lado esquerdo; sensibilidade a fármacos em tumores com RAS/RAF não mutados; estudos do biobanco HROC Linnebacher; avaliação da imunoterapia do CCR; oncologia pré-clínica

CLASSIFICAÇÃO

Organismo	Humano
Sexo	Masculino
Propriedades de crescimento	Aderente
Estatuto em matéria de OGM	Sem OGM

Detalhes sobre o estatuto dos OGM

No genetic modification; wildtype patient-derived CRC cell line from the HROC Linnebacher biobank. KRAS wild-type, BRAF wild-type, MSS, CIMP-negative.

Nível de biossegurança	1

CARACTERÍSTICAS

Morfologia	De tipo epitelial
Tipo de célula	Células epiteliais
Estado do MSI	MSS

IDENTIFICADORES

Referência

HROC348 (número de catálogo Cytion 300719)

Número de identificação fiscal do NCBI	9606
Cellosaurus	Not assigned

MANUSEAMENTO E CULTURA

Meio de cultura

DMEM:Ham's F12 (1:1), com: 3,1 g/L de glucose, com: 2,5 mM de L-Glutamina, com: 15 mM de HEPES, com: 0,5 mM de piruvato de sódio, com: 1,2 g/L de NaHCO3 (número de artigo Cytion 820400a)

Atmosfera de incubação	37°C, 5%CO2, atmosfera humidificada.

Suplementos

Completar o meio com 10% de FBS

Reagente de dissociação	Accutase

Subcultura

Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.

Renovação de fluidos	2 a 3 vezes por semana

Descongelamento e cultura

Confirm that the vial remains deeply frozen upon delivery, as cells are shipped on dry ice to maintain optimal temperatures during transit.
Upon receipt, either store the cryovial immediately at temperatures below -150°C to ensure the preservation of cellular integrity, or proceed to step 3 if immediate culturing is required.
For immediate culturing, swiftly thaw the vial by immersing it in a 37°C water bath with clean water and an antimicrobial agent, agitating gently for 40-60 seconds until a small ice clump remains.
Perform all subsequent steps under sterile conditions in a flow hood, disinfecting the cryovial with 70% ethanol before opening.
Carefully open the disinfected vial and transfer the cell suspension into a 15 ml centrifuge tube containing 8 ml of room-temperature culture medium, mixing gently.
Centrifuge the mixture at 300 x g for 3 minutes to separate the cells and carefully discard the supernatant containing residual freezing medium.
Gently resuspend the cell pellet in 10 ml of fresh culture medium. For adherent cells, divide the suspension between two T25 culture flasks; for suspension cultures, transfer all the medium into one T25 flask to promote effective cell interaction and growth.
Adhere to established subculture protocols for continued growth and maintenance of the cell line, ensuring reliable experimental outcomes.

CONTROLO DE QUALIDADE E CRIOPRESERVAÇÃO

Esterilidade

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.
Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.

Meio de congelação	Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores optimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Condições de armazenamento

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Condições de envio

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

DOADOR

Idade do dador	77 anos
Etnia	Caucasiano

ASPECTOS LEGAIS E DE SEGURANÇA

Precauções de segurança

Quando se planeia armazenar um criovial em nitrogénio líquido para descongelação futura, é obrigatório aderir a medidas de segurança rigorosas. Luvas e vestuário de proteção adequados são essenciais, e a utilização de uma máscara facial ou óculos de segurança é necessária durante a transferência de amostras congeladas para ou do tanque de nitrogénio líquido. Isto destina-se a mitigar o risco de ferimentos provocados por potenciais explosões de crioviais após a remoção, que podem resultar na projeção de fragmentos afiados.

Garantia

Na Cytion, nós garantimos a qualidade e a viabilidade de nossos produtos.
Garantimos que nossas células serão viáveis no início da cultura por 60 dias após o envio de nossas instalações.
Asseguramos que todos os materiais estão em conformidade com as especificações descritas no Certificado de Análise e/ou Folha de Produto
Para mais informações, consulte a nossa <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Declaração de Garantia

Aplicam-se os acordos com terceiros	Yes