

Células HROC69 | 300828**Información general**

Description	Se trata de una línea celular de una serie de líneas celulares tumorales creadas por el Dr. Michael Linnebacher a partir de muestras de resecciones primarias de CCR desde 2006.
Organism	Humano
Tissue	Colon ascendens, UICC IIIa
Disease	Adenocarcinoma primario, estadio TNM T3N0M1R0L0V0, gradación G3, Lk(n) + 0, Σ Lk(n) 34
Synonyms	HROC69P

Características

Age	62 años
Gender	Hombre
Ethnicity	Caucásico
Morphology	De tipo epitelial
Growth properties	Adherente

Datos reglamentarios

Citation	HROC69 (número de catálogo 300828 de Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1G06
Depositor	M. Linnebacher

Datos biomoleculares

Células HROC69 | 300828

Protein expression	Beta-actina, osteopontina -, receptor tipo Toll (TLR) 3 -, TLR4 moderado, TLR7 bajo, TLR8 -, PTEN
Antigen expression	Alto nivel de expresión de fofatidilserina (PS)
Tumorigenic	Sí, en ratones desnudos inmunodeprimidos
Viruses	Libre de virus patógenos humanos SV40, JC/BK, VHB, VHC, VIH.
Ploidy status	Aneuploide
MSI-status	MSS
Mutational profile	APCR1450*, p53R306*, K-Raswt, B-RAFwt, N-Raswt, H-Raswt, SNP rs12628 codón 27, PIK3CAwt

Manejo de

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L de glucosa, w: 2,5 mM de L-glutamina, w: 15 mM de HEPES, w: 0,5 mM de piruvato sódico, w: 1,2 g/L de NaHCO ₃ (número de artículo de Cytion 820400a)
Supplements	Complementar el medio con un 10% de FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	de 25 a 40 horas
Subculturing	Retire el medio antiguo de las células adheridas y lávelas con PBS que carezca de calcio y magnesio. Para matraces T25, utilice 3-5 ml de PBS, y para matraces T75, utilice 5-10 ml. A continuación, cubra completamente las células con Accutase, utilizando 1-2 ml para matraces T25 y 2,5 ml para matraces T75. Deje incubar las células a temperatura ambiente durante 8-10 minutos para desprenderlas. Tras la incubación, mezclar suavemente las células con 10 ml de medio para resuspenderlas y, a continuación, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Desechar el sobrenadante, resuspender las células en medio fresco y transferirlas a nuevos matraces que ya contengan medio fresco.
Split ratio	Se recomienda una proporción de 1:3 a 1:10
Seeding density	2×10^4 células/cm ²
Fluid renewal	Cada 3 a 5 días

Células HROC69 | 300828**Post-Thaw Recovery**

2 semanas

Freeze medium

Como medio de criopreservación, utilizamos el medio de crecimiento completo (incluido FBS) + 10% DMSO para una viabilidad adecuada tras la descongelación, o CM-1 (número de catálogo 800100 de Cytion), que incluye osmoprotectores optimizados y estabilizadores metabólicos para mejorar la recuperación y reducir el estrés crioinducido.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que el vial permanece profundamente congelado en el momento de la entrega, ya que las células se envían en hielo seco para mantener temperaturas óptimas durante el transporte.
2. Tras la recepción, almacene el criovial inmediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantizar la conservación de la integridad celular, o proceda al paso 3 si se requiere el cultivo inmediato.
3. Para el cultivo inmediato, descongele rápidamente el vial sumergiéndolo en un baño de agua a 37°C con agua limpia y un agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos hasta que quede un pequeño grumo de hielo.
4. Realice todos los pasos siguientes en condiciones estériles en una campana de flujo, desinfectando el criovial con etanol al 70% antes de abrirlo.
5. Abrir con cuidado el vial desinfectado y transferir la suspensión celular a un tubo de centrifuga de 15 ml que contenga 8 ml de medio de cultivo a temperatura ambiente, mezclando suavemente.
6. Centrifugar la mezcla a 300 x g durante 3 minutos para separar las células y desechar cuidadosamente el sobrenadante que contiene medio de congelación residual.
7. Resuspender suavemente el sedimento celular en 10 ml de medio de cultivo fresco. Para las células adherentes, dividir la suspensión entre dos matraces de cultivo T25; para los cultivos en suspensión, transferir todo el medio a un matraz T25 para promover la interacción y el crecimiento celular efectivos.
8. Siga los protocolos de subcultivo establecidos para el crecimiento y mantenimiento continuos de la línea celular, garantizando resultados experimentales fiables.

Incubation Atmosphere37°C, 5%_{CO₂}, atmósfera humidificada.**Flask Coating**

Ninguno

Células HROC69 | 300828**Freezing
Procedure**

Las líneas celulares crioconservadas se envían en hielo seco en envases validados y aislados con suficiente refrigerante para mantener aproximadamente -78 °C durante el tránsito. A la recepción, inspeccione el envase inmediatamente y transfiera los viales sin demora al almacenamiento adecuado.

**Shipping
Conditions**

Las líneas celulares crioconservadas se envían en hielo seco en envases validados y aislados con suficiente refrigerante para mantener aproximadamente -78 °C durante el tránsito. A la recepción, inspeccione el envase inmediatamente y transfiera los viales sin demora al almacenamiento adecuado.

**Storage
Conditions**

Para la conservación a largo plazo, colocar los viales en nitrógeno líquido en fase vapor a una temperatura aproximada de -150 a -196 °C. El almacenamiento a -80 °C sólo es aceptable como breve paso intermedio antes de la transferencia al nitrógeno líquido.

Control de calidad y análisis molecular**Sterility**

La contaminación por micoplasma se excluye utilizando tanto ensayos basados en la PCR como métodos de detección de micoplasma basados en la luminiscencia.

Para garantizar la ausencia de contaminación bacteriana, fúngica o por levaduras, los cultivos celulares se someten a inspecciones visuales diarias.

Perfil de STR

Amelogenin: x,y
CSF1PO: 10,11
D13S317: 11,12
D16S539: 12,13
D5S818: 12,13
D7S820: 10,12
TH01: 7,9.3
TPOX: 8,12
vWA: 17,19
D21S11: 29,33.2