

## Cellule HROC40 | 300822

## Informazioni generali

<b>Description</b>	Questa è una linea cellulare di una serie di linee cellulari tumorali che sono state create dal Dr. Michael Linnebacher a partire da campioni di resezione primaria di CRC dal 2006.
<b>Organism</b>	Umano
<b>Tissue</b>	Colon discendente, UICC IIIa
<b>Disease</b>	Adenocarcinoma primario, stadio TNM T3N1M0R0L1V1, grading G3, Lk(n) + 2, Σ Lk(n) 18

## Caratteristiche

<b>Age</b>	69 anni
<b>Gender</b>	Uomo
<b>Ethnicity</b>	Caucasico
<b>Morphology</b>	Simile all'epitelio
<b>Growth properties</b>	Aderente

## Dati normativi

<b>Citation</b>	HROC40 (numero di catalogo Cytion 300822)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_1G01
<b>Depositor</b>	M. Linnebacher

## Dati biomolecolari

<b>Protein expression</b>	Beta-actina, osteopontina bassa, recettore Toll-like (TLR) 3 moderato, TLR4 moderato, TLR7 basso, TLR8 -, PTEN
---------------------------	--

## Cellule HROC40 | 300822

**Antigen expression** CD326+, CD44+, CD15+, CD71+, CD73+, CD274+, CD47+, CD54+, CD95+, CD276+, CD133- , CD66acdewweak, IDO+, cFLIP+, MHC-I+, MHCIIweak dopo trattamento con IFN- $\gamma$ , EpCAM+

**Tumorigenic** Sì, in topi nudi immunosoppressi

**Viruses** Privo di virus patogeni umani SV40, JC/BK, HBV, HCV, HIV.

**Ploidy status** Aneuploide

**MSI-status** MSS

**Mutational profile** P53G266e, APCwt, K-RasG13D, mt13, N-Raswt, H-Raswt, PIK3CAwt, B-Rafwt

## Manipolazione

**Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L di glucosio, w: 2,5 mM di L-Glutammina, w: 15 mM di HEPES, w: 0,5 mM di Sodio piruvato, w: 1,2 g/L di NaHCO<sub>3</sub> (articolo Cytion numero 820400a)

**Supplements** Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Dopo lo scongelamento, risospingere accuratamente il pellet cellulare. Centrifugare a 300 x g per 3 minuti e scartare il surnatante. Seminare in 2 fiasche di coltura da 25 cm<sup>2</sup> e lasciare le fiasche per 48 ore nell'incubatore. Sostituire il terreno di coltura ogni 2-3 giorni, fino a raggiungere l'80-90% di confluenza. Ci vorranno circa 10-14 giorni.

**Split ratio** Si consiglia un rapporto da 1:4 a 1:8

**Seeding density** 5x10<sup>4</sup> cellule/cm<sup>2</sup> dopo lo scongelamento, 3x10<sup>4</sup> cellule/cm<sup>2</sup> una volta che le cellule stanno proliferando vigorosamente

**Fluid renewal** Ogni 3-5 giorni

**Post-Thaw Recovery** Veloce

**Freeze medium** Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelamento, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

## Cellule HROC40 | 300822

### Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

### Incubation Atmosphere

37°C, 5%  $\text{CO}_2$ , atmosfera umidificata.

### Flask Coating

Per un attaccamento e una vitalità ottimali dopo lo scongelamento, si consiglia di utilizzare **fiasche o piastre rivestite di collagene**.

### Freezing Procedure

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

## Cellule HROC40 | 300822

### Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

### Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

## Controllo di qualità / Profilo genetico / HLA

### Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.

### Profilo STR

**Amelogenin:** x (Paziente maschio, Y perso)

**CSF1PO:** 10

**D13S317:** 11,12

**D16S539:** 10,11

**D5S818:** 11,13

**D7S820:** 11

**TH01:** 8,9

**TPOX:** 8

**vWA:** 15,17

**D21S11:** 30