

Cellule HROC69 | 300828

Informazioni generali

Description	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.
Organism	Umano
Tissue	Colon ascendente, UICC IIIa
Disease	Adenocarcinoma primario, stadio TNM T3N0M1R0L0V0, grading G3, Lk(n) + 0, Σ Lk(n) 34
Synonyms	HROC69P

Caratteristiche

Age	62 anni
Gender	Uomo
Ethnicity	Caucasico
Morphology	Simile all'epitelio
Growth properties	Aderente

Dati normativi

Citation	HROC69 (numero di catalogo Cytion 300828)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1G06
Depositor	M. Linnebacher

Dati biomolecolari

Cellule HROC69 | 300828

Protein expression	Beta-actina, osteopontina -, recettore Toll-like (TLR) 3 -, TLR4 moderato, TLR7 basso, TLR8 -, PTEN
Antigen expression	Elevato livello di espressione della fosfatidilserina (PS)
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	APCR1450*, p53R306*, K-Raswt, B-RAFwt, N-Raswt, H-Raswt, SNP rs12628 codone 27, PIK3CAwt

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 ₃ (articolo Cytion numero 820400a)
Supplements	Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	da 25 a 40 ore
Subculturing	Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.
Split ratio	Si consiglia un rapporto da 1:3 a 1:10
Seeding density	2×10^4 cellule/cm ²
Fluid renewal	Ogni 3-5 giorni

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

2 settimane

Freeze medium

Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongellamento, 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.

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 Atmosphere37°C, 5% CO_2 , atmosfera umidificata.**Flask Coating**

Nessuno

Cellule HROC69 | 300828**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.

**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 qualità e analisi molecolare**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,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