

## Cellule HROC32 T3 M1 | 300819

## Informazioni generali

|                        |                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
|------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Description</b>     | Si tratta di una linea cellulare di una serie di linee cellulari tumorali che il PD Dr. Michael Linnebacher ha creato a partire da campioni di resezione primaria di CRC nel 2006. Questa linea cellulare è stata derivata da un tumore in fase avanzata di HROC32.                                  |
| <b>Organism</b>        | Umano                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| <b>Tissue</b>          | Colon ascendens, UICC IV, stabilito da uno xenotrapianto di tessuto CRC primario derivato dal paziente (Colon ascendens, stadio TNM T4N2M1R0L0V1 grading G2, Lk(n) + 9, $\Sigma$ Lk(n) 14)                                                                                                           |
| <b>Disease</b>         | Adenocarcinoma                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| <b>Metastatic site</b> | Metastasi a distanza (stadio IV secondo l'UICC; TNM T4N2M1; sede specifica della metastasi a distanza non documentata)                                                                                                                                                                               |
| <b>Applications</b>    | Ricerca sul cancro del colon-retto; modellizzazione del cancro del colon-retto in stadio avanzato; biologia del cancro del colon-retto PTEN-negativo; valutazione della chemioterapia e delle terapie mirate; immunologia del cancro del colon-retto; studi sugli xenotrapianti derivati da pazienti |
| <b>Synonyms</b>        | HROC32x                                                                                                                                                                                                                                                                                              |

## Caratteristiche

|                          |                     |
|--------------------------|---------------------|
| <b>Age</b>               | 82 anni             |
| <b>Gender</b>            | Donna               |
| <b>Ethnicity</b>         | Caucasico           |
| <b>Morphology</b>        | Simile all'epitelio |
| <b>Cell type</b>         | Cellule epiteliali  |
| <b>Growth properties</b> | Aderente            |

## Dati normativi

|                 |                                                 |
|-----------------|-------------------------------------------------|
| <b>Citation</b> | HROC32 T3 M1 (numero di catalogo Cytion 300819) |
|-----------------|-------------------------------------------------|

## Cellule HROC32 T3 M1 | 300819

|                      |                                                                                                                                                         |
|----------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Biosafety level      | 1                                                                                                                                                       |
| NCBI_TaxID           | 9606                                                                                                                                                    |
| CellosaurusAccession | CVCL_1D07                                                                                                                                               |
| Depositor            | M. Linnebacher                                                                                                                                          |
| GMO Status           | Nessuna modificazione genetica; linea cellulare di carcinoma colorettale (CRC) di tipo selvatico derivata da un paziente, creata dal PD Dr. Linnebacher |

## Dati biomolecolari

|                    |                                                                                                                                  |
|--------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Protein expression | PTEN                                                                                                                             |
| Antigen expression | CD15 +, CD24 +, CD44 +, CD55 +, CD58 +, CD50 +, CD 54 +, CD66acde +, CD71 +, CD102 +, CD326 +, CD80 - , CD86-, EpCAM +, HLA-A2 + |
| 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 | APCwt, p53R282W, K-RasG12A, N-Raswt, H-Raswt SNP rs12628 al codone 27, PIK3CAst, BRafwt                                          |

## Manipolazione

|                      |                                                                                                                                                                               |
|----------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Culture Medium       | DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L di glucosio, w: 2,5 mM di L-Glutamina, w: 15 mM di HEPES, w: 0,5 mM di Sodio piruvato, w: 1,2 g/L di NaHCO3 (articolo Cytion numero 820400a) |
| Supplements          | Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS                                                                                                                             |
| Dissociation Reagent | Accutase                                                                                                                                                                      |
| Doubling time        | 30 ore                                                                                                                                                                        |

**Cellule HROC32 T3 M1 | 300819**

|                           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
|---------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Subculturing</b>       | 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. |
| <b>Split ratio</b>        | da 1 a 3                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| <b>Seeding density</b>    | $2 \times 10^4$ cellule/cm <sup>2</sup>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| <b>Fluid renewal</b>      | Ogni 3-5 giorni                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| <b>Post-Thaw Recovery</b> | da 1 a 2 settimane                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| <b>Freeze medium</b>      | Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelo, 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 HROC32 T3 M1 | 300819

### 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

Nessuno

### 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.

## Cellule HROC32 T3 M1 | 300819

### 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,x  
**CSF1PO:** 14  
**D13S317:** 11,12  
**D16S539:** 11,12  
**D5S818:** 11,12  
**D7S820:** 8,11  
**TH01:** 8,9  
**TPOX:** 8,11  
**vWA:** 19  
**D21S11:** 31