

Cellules HROC32 | 300818

Renseignements généraux

Description	Il s'agit d'une lignée cellulaire faisant partie d'une série de lignées cellulaires tumorales mises au point par le Dr Michael Linnebacher à partir d'échantillons issus de résections de CCR primaires depuis 2006.
Organism	Humain
Tissue	Côlon ascendant, stade IV de l'UICC
Disease	Adénocarcinome primaire, stade TNM T4N2M1R0L0V1, grade G2, Lk(n) + 9, Σ Lk(n) 14
Synonyms	HROC32P

Caractéristiques

Age	82 ans
Gender	Femme
Ethnicity	caucasien
Morphology	De type épithélial
Growth properties	Adeptes

Données réglementaires

Citation	HROC32 (numéro de catalogue Cytion 300818)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1D06

Données biomoléculaires

Protein expression	PTEN
---------------------------	------

Cellules HROC32 | 300818

Antigen expression CD15+, CD24+, CD44+, CD55+, CD58+, CD50+, CD54+, CD66acde+, CD71+, CD102+, CD326+, CD80-, CD86 -, EpCAM+, HLA-A2+, MHC I+, MHC II+ (prétraité à l'IFN-γ), Her2/neu+

Tumorigenic Oui, chez les souris nues immunodéprimées

Viruses Exempt de virus pathogènes pour l'humain : SV40, JC/BK, VHB, VHC, VIH.

MSI-status MSS

Mutational profile APCwt, p53R282W, K-RasG12A, N-Raswt, H-Raswt (SNP rs12628 au codon 27), PIK3CAst, BRafwt

Manipulation

Culture Medium DMEM : F12 de Ham (1:1), p/v : 3,1 g/L de glucose, p/v : 2,5 mM de L-glutamine, p/v : 15 mM d'HEPES, 0,5 mM de pyruvate de sodium, 1,2 g/L de NaHCO₃ (référence Cytion 820400a)

Supplements Ajouter 10 % de FBS au milieu de culture

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 30 heures

Subculturing Retirez l'ancien milieu des cellules adhérentes et lavez-les avec du PBS sans calcium ni magnésium. Pour les flacons T25, utilisez 3 à 5 ml de PBS, et pour les flacons T75, utilisez 5 à 10 ml. Ensuite, recouvrez complètement les cellules d'Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laissez les cellules incuber à température ambiante pendant 8 à 10 minutes afin de les détacher. Après l'incubation, mélangez délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifugez à 300 x g pendant 3 minutes. Éliminez le surnageant, remettez les cellules en suspension dans du milieu frais, puis transférez-les dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.

Seeding density 2×10^4 cellules/cm²

Fluid renewal Tous les 3 à 5 jours

Post-Thaw Recovery 1 à 2 semaines

Cellules HROC32 | 300818

Freeze medium

Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (contenant du sérum fœtal bovin) + 10 % de DMSO pour assurer une viabilité adéquate après décongélation, ou du CM-1 (référence Cytion 800100), qui contient des osmoprotecteurs et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryoconservation.

Thawing and Culturing Cells

1. Assurez-vous que le flacon reste bien congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche afin de maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. À la réception, conservez immédiatement le cryofiole à une température inférieure à -150 °C pour garantir la préservation de l'intégrité cellulaire, ou passez à l'étape 3 si une culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une culture immédiate, décongelez rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37 °C contenant de l'eau propre et un agent antimicrobien, en agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit morceau de glace.
4. Effectuez toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux laminaire, en désinfectant le cryotube avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrez avec précaution le flacon désinfecté et transférez la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant délicatement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules, puis jeter avec précaution le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre délicatement le culot cellulaire en suspension dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension dans deux flacons de culture T25; pour les cultures en suspension, transférer la totalité du milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance cellulaires efficaces.
8. Respectez les protocoles de sous-culture établis pour assurer la croissance continue et le maintien de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % de CO₂, atmosphère humidifiée.

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées dans de la glace sèche, dans un emballage isotherme validé contenant suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C pendant tout le transport. À la réception, inspectez immédiatement le conteneur et transférez sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Cellules HROC32 | 300818

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placez les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre environ -150 et -196 °C. L'entreposage à -80 °C n'est acceptable qu'à titre d'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle de la qualité et analyse moléculaire

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes par luminescence.

Afin de s'assurer qu'il n'y a aucune contamination bactérienne, fongique ou par des levures, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.