

## HROC103 T0 M1 Bunky | 300802

## Všeobecné informácie

<b>Description</b>	Ide o jednu zo série bunkových línií, ktoré od roku 2006 vytvoril PD Dr. Michael Linnebacher z PDTx (xenotransplantátu odvodeného od pacienta).
<b>Organism</b>	Ľudské
<b>Tissue</b>	Kolorektálny, vytvorený z PDx (xenotransplantát odvodený od pacienta) primárneho tkaniva CRC (Colon ascendens, TNM štádium T2N1M0R0L0V0, stupeň G2, Lk(n) + 2, $\Sigma$ Lk(n) 23).
<b>Disease</b>	Adenokarcinóm
<b>Metastatic site</b>	Postihnutie regionálnych lymfatických uzlín (TNM N1; Lk(n)+2 z 23 vyšetrených); bez vzdialených metastáz (M0)
<b>Applications</b>	Výskum kolorektálneho karcinómu; biológia kolorektálneho karcinómu; výskum bunkových línií odvodených z PDx; hodnotenie citlivosti na lieky a cieľená terapia; modelovanie kolorektálneho karcinómu s mutáciami p53/KRAS; imunológia kolorektálneho karcinómu typu MSS; štúdie s biobankou HROC prispôbenou konkrétnym pacientom
<b>Synonyms</b>	HROC103

## Charakteristika

<b>Age</b>	44 rokov
<b>Gender</b>	Muži
<b>Ethnicity</b>	Kaukazský
<b>Morphology</b>	Malé bunky v kolóniách
<b>Cell type</b>	Epitelové
<b>Growth properties</b>	Adherent

## Regulačné údaje

<b>Citation</b>	HROC103 T0 M1 (katalógové číslo Cytion 300802)
<b>Biosafety level</b>	1

## HROC103 T0 M1 Bunky | 300802

**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_1D10**GMO Status** Bez genetickej modifikácie; bunková línia CRC divokého typu odobratá z pacienta, vytvorená z xenotransplantátu odobratého z pacienta pod vedením PD Dr. Linnebachera**Biomolekulárne údaje****Ploidy status** Aneuploidné**MSI-status** MSS**Mutational profile** P53 mut, APC mut, K-RasG12VA, N-Raswt, H-Raswt, PIK3CAwt, B-Rafwt**Spracovanie****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glukózy, w: 2,5 mM L-glutamínu, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM pyruvátu sodného, w: 1,2 g/l NaHCO<sub>3</sub> (číslo výrobku Cytion 820400a)**Supplements** Doplníte médium o 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 30 hodín**Subculturing** Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredujte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.**Split ratio** 1 až 3**Seeding density**  $2 \times 10^4$  buniek/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal** Každých 3 až 5 dní

**HROC103 T0 M1 Bunky | 300802****Post-Thaw Recovery**

Niekoľko dní

**Freeze medium**

Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

**Incubation Atmosphere**37 °C, 5 %<sub>CO2</sub>, zvlhčená atmosféra.**Flask Coating**

Žiadne

## HROC103 T0 M1 Bunky | 300802

### Freezing Procedure

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

### Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

### Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

## Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

### Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.