

**Bunky HROC40 | 300822****Všeobecné informácie**

<b>Description</b>	Ide o jednu zo série nádorových bunkových línií, ktoré od roku 2006 vytvoril Dr. Michael Linnebacher zo vzoriek primárnych resektátov CRC.
<b>Organism</b>	Ľudské
<b>Tissue</b>	Colon descendens, UICC IIIa
<b>Disease</b>	Primárny adenokarcinóm, TNM štádium T3N1M0R0L1V1, grading G3, Lk(n) + 2, Σ Lk(n) 18

**Charakteristika**

<b>Age</b>	69 rokov
<b>Gender</b>	Muži
<b>Ethnicity</b>	Kaukazský
<b>Morphology</b>	Epitelu podobné
<b>Growth properties</b>	Adherent

**Regulačné údaje**

<b>Citation</b>	HROC40 (katalógové číslo Cytion 300822)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_1G01

**Biomolekulárne údaje**

<b>Protein expression</b>	Beta-aktín, osteopontín nízky, Toll-like receptor (TLR) 3 stredný, TLR4 stredný, TLR7 nízky, TLR8 -, PTEN
<b>Antigen expression</b>	CD326+, CD44+, CD15+, CD71+, CD73+, CD274+, CD47+, CD54+, CD95+, CD276+, CD133-, CD66acdewweak, IDO+, cFLIP+, MHC-I+, MHCIIweak po liečbe IFN-γ, EpCAM+

**Bunky HROC40 | 300822**

<b>Tumorigenic</b>	Áno, u imunosuprimovaných nahých myší
<b>Viruses</b>	Neobsahuje ľudské patogénne vírusy SV40, JC/BK, HBV, HCV, HIV.
<b>Ploidy status</b>	Aneuploidné
<b>MSI-status</b>	MSS
<b>Mutational profile</b>	P53G266e, APCwt, K-RasG13D, mt13, N-Raswt, H-Raswt, PIK3CAwt, B-Rafwt

**Spracovanie**

<b>Culture Medium</b>	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)
<b>Supplements</b>	Doplňte médium o 10 % FBS
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Subculturing</b>	Po rozmrazení opatrne resuspendujte bunkovú peletu. Centrifugujte pri 300 x g počas 3 minút a supernatant zlikvidujte. Nasadte bunky do baniek s veľkosťou 2x 25 cm <sup>2</sup> a nechajte banky 48 hodín v inkubátore. Každé 2 - 3 dni vymeňte použité médium, kým sa nedosiahne 80 - 90 % konfluencia. To bude trvať približne 10 - 14 dní.
<b>Seeding density</b>	5x10 <sup>4</sup> buniek/cm <sup>2</sup> po rozmrazení, 3x10 <sup>4</sup> buniek/cm <sup>2</sup> po intenzívnom rozmnožovaní buniek
<b>Fluid renewal</b>	Každých 3 až 5 dní
<b>Post-Thaw Recovery</b>	Rýchle
<b>Freeze medium</b>	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.

## Bunky HROC40 | 300822

### 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  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 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  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  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  $300 \times g$  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

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , zvlhčená atmosféra.

### Flask Coating

Na dosiahnutie optimálneho uchytenia a životaschopnosti po rozmrazení odporúčame používať **banky alebo platne s kolagénom**.

### Freezing Procedure

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

## Bunky HROC40 | 300822

### 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.