

Bunky HROC40 | 300822**Všeobecné informácie**

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

Charakteristika

Age	69 rokov
Gender	Muži
Ethnicity	Kaukazský
Morphology	Epitelu podobné
Growth properties	Adherent

Regulačné údaje

Citation	HROC40 (katalógové číslo Cytion 300822)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1G01

Biomolekulárne údaje

Protein expression	Beta-aktín, osteopontín nízky, Toll-like receptor (TLR) 3 stredný, TLR4 stredný, TLR7 nízky, TLR8 -, PTEN
Antigen expression	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

Tumorigenic	Áno, u imunosuprimovaných nahých myší
Viruses	Neobsahuje ľudské patogénne vírusy SV40, JC/BK, HBV, HCV, HIV.
Ploidy status	Aneuploidné
MSI-status	MSS
Mutational profile	P53G266e, APCwt, K-RasG13D, mt13, 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 ₃ (číslo výrobku Cytion 820400a)
Supplements	Doplňte médium o 10 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	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 ² 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.
Seeding density	5x10 ⁴ buniek/cm ² po rozmrazení, 3x10 ⁴ buniek/cm ² po intenzívnom rozmnožovaní buniek
Fluid renewal	Každých 3 až 5 dní
Post-Thaw Recovery	Rýchle
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.

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 °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 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žiadne

**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.

Bunky HROC40 | 300822

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.