

**Bunky RH-35 | 305210****Všeobecné informácie****Description**

Bunková línia H4-II-E (označovaná aj ako RH-35) je derivátom hepatómu potkana Reuber H-35. Táto bunková línia pochádza z nádoru pečene vyvolaného u samcov potkana ACI pôsobením chemického karcinogénu N-2-fluorenyldiacetamidu. Po transplantácii potkanom ACI tvoria bunky H4-II-E rýchlo rastúce nádory s histologickými znakmi charakteristickými pre slabo diferencované hepatómy. Sú obzvlášť citlivé na indukciu aktivity aryl uhľovodíkovej hydroxylázy (AHH), čo z nich robí spoľahlivý systém na štúdium enzymatických reakcií na polycyklické aromatické uhľovodíky a zlúčeniny podobné dioxínom.

Bunky H4-II-E slúžia aj ako model na štúdium bunkových reakcií na karcinogény a žiarenie vzhľadom na ich klonogenitu a schopnosť testovať dlhodobé prežívanie buniek po liečbe. Ich použitie sa rozširuje na skúmanie mechanizmov indukcie enzýmov, metabolizmu xenobiotík a toxikológie špecifickej pre pečeň. Tieto vlastnosti robia z H4-II-E neoceniteľný nástroj vo výskume rakoviny a toxikologickom skríningu.

**Organism** Krysy**Tissue** Pečeň**Disease** Hepatocelulárny karcinóm potkana**Synonyms** H4II, H-35tc2, Reuber-H-35 hepatoma tissue culture 2, Reuber H-35 tc2, Reuber H35 tc2, H-35 Reuber tc2, H35 Reuber tc2, RH-35 tc2, RH35 tc2, H-35 tc2, H35 tc2**Charakteristika****Breed/Subspecies** AxC**Gender** Muži**Morphology** Epitelové**Growth properties** Adherent**Regulačné údaje****Citation** RH-35 (katalógové číslo Cytion 305210)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 10116

**Bunky RH-35 | 305210**

CellosaurusAccession CVCL\_4623

**Biomolekulárne údaje****Spracovanie**

**Culture Medium** Ham's F12, w: 1,0 mM stabilný glutamín, w: 1,0 mM pyruvát sodný, w: 1,1 g/L NaHCO<sub>3</sub> (Cytion číslo výrobku 820600a)

**Supplements** Doplníte médium o 10 % FBS

**Dissociation Reagent** Accutase

**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 odstredíte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.

**Split ratio** 1:2 až 1:4

**Fluid renewal** 2 až 3-krát týždenne

**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 RH-35 | 305210

### 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 %  $\text{CO}_2$ , 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 RH-35 | 305210

### 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.