

Bunky HROC32 T3 M1 | 300819**Všeobecné informácie**

Description	Ide o jednu zo série nádorových bunkových línií, ktoré od roku 2006 vytvoril Dr. Michael Linnebacher zo vzoriek primárnych resektátov CRC. Táto bunková línia bola odvodená z nádoru HROC32 v neskorom štádiu.
Organism	Ľudské
Tissue	Colon ascendens, UICC IV, vytvorený z primárneho tkaniva CRC odvodeného od pacienta (Colon ascendens, TNM štádium T4N2M1R0L0V1, grading G2, Lk(n) + 9, Σ Lk(n) 14)
Disease	Adenokarcinóm
Metastatic site	Vzdialené metastázy (štádium IV podľa UICC; TNM T4N2M1; konkrétne miesto vzdialenej metastázy nie je zdokumentované)
Applications	Výskum kolorektálneho karcinómu; modelovanie kolorektálneho karcinómu v pokročilom štádiu; biológia PTEN-negatívneho kolorektálneho karcinómu; hodnotenie chemoterapie a cielených terapií; imunológia kolorektálneho karcinómu; štúdie s xenotransplantátmi od pacientov
Synonyms	HROC32x

Charakteristika

Age	82 rokov
Gender	Ženy
Ethnicity	Kaukazský
Morphology	Epitelu podobné
Cell type	Epitelové bunky
Growth properties	Adherent

Regulačné údaje

Citation	HROC32 T3 M1 (katalógové číslo Cytion 300819)
Biosafety level	1

Bunky HROC32 T3 M1 | 300819**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1D07**GMO Status** Bez genetickej modifikácie; bunková línia CRC divokého typu odobratá od pacienta, ktorú vytvoril PD Dr. Linnebacher**Biomolekulárne údaje****Protein expression** PTEN**Antigen expression** CD15 +, CD24 +, CD44 +, CD55 +, CD58 +, CD50 +, CD 54 +, CD66acde +, CD71 +, CD102 +, CD326 +, CD80 -, CD86-, EpCAM +, HLA-A2 +**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** APCwt, p53R282W, K-RasG12A, N-Raswt, H-Raswt SNP rs12628 v kodóne 27, PIK3CAst, BRafwt**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 NaHCO₃ (číslo výrobku Cytion 820400a)**Supplements** Doplňte médium o 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 30 hodín

Bunky HROC32 T3 M1 | 300819

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 2×10^4 buniek/cm²

Fluid renewal Každých 3 až 5 dní

Post-Thaw Recovery 1 až 2 týždne

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 HROC32 T3 M1 | 300819**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 HROC32 T3 M1 | 300819

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.