Product sheet

HROHep03 Клетки | 300197

Обща информация

Description	HROHep03 е клетъчна линия на човешки хепатоцелуларен аденокарцином, получена от първичен тумор на черния дроб на 71-годишна пациентка от кавказката раса, част от серията на биобанката HRO от туморни клетъчни линии, получени от пациенти, разработена от доц. д-р Михаел Линнебахер от 2006 г. насам. Туморът беше класифициран като първичен аденокарцином в стадий T0NxMx по класификацията TNM, степен 3, което отразява високостепенен хепатоцелуларен аденокарцином без потвърдени отдалечени метастази към момента на вземането на тъканния образец. HROHep03 расте като адхезивен монослой с фибробластоподобна морфология и е потвърдено, че не съдържа човешки патогенни вируси HBV, HCV и HIV, в съответствие със строгите стандарти за контрол на качеството на серията на биобанката на Линнебахер. HROHep03 е приложима в изследвания на хепатоцелуларен аденокарцином, проучвания на биологията на високостепенни чернодробни туморни клетки, тестове за лекарствена чувствителност и резистентност (сорафениб, цисплатин, 5-FU), тестове за инвазия и миграция на чернодробни тумори, както и анализ на молекулярни пътища. Като част от биобанката HRO тази линия предоставя специфичен за пациента биологичен ресурс, който може да бъде съчетан със съответстващ имунологичен материал от същия пациент за персонализирани онкологични изследвания. Нейната фибропластоподобна морфология я отличава фенотипно от по-разпространените хепатоцитоподобни линии на ХЦК и може да отразява епителиално-мезенхимни характеристики, придобити по време на туморната прогресия или при адаптация in vitro.
Organism	Човек
Tissue	Черен дроб
Disease	Първичен аденокарцином, стадий T0NxMx, степен 3
Metastatic site	Неприложимо (стадий по класификацията TNM: T0NxMx; няма потвърдени отдалечени метастази към момента на вземане на пробата)
Applications	Изследвания върху хепатоцелуларния аденокарцином; моделиране на HCC с висока степен на злокачественост; тестове за лекарствена чувствителност (сорафениб, цисплатин, 5-FU); инвазия и миграция на чернодробни тумори; проучвания с биобанка HRO, съобразена с конкретните пациенти

Характеристики

Age	71 години
Gender	Жена
Ethnicity	Кавказки

HROHep03 Клетки | 300197

Morphology	Подобни на фибробласти
Cell type	Фибробластоподобен (хепатоцелуларен карцином)
Growth properties	Придържащи се

Регулаторни данни

Citation	HROHep03 (каталожен номер 300197 на Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_2U72
GMO Status	Без генетична модификация; клетъчна линия от хепатоцелуларен аденокарцином от пациент, получена от див тип, създадена от д-р Линнебахер. Потвърдено, че е свободна от HBV, HCV и HIV.

Биомолекулярни данни

Viruses	Без човешки патогенни вируси HBV, HCV, HIV.

Работа с

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L глюкоза, w: 2,5 mM L-глутамин, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM натриев пируват, w: 1,2 g/L NaHCO3 (номер на изделието на Cytion 820400a)
Supplements	Допълнете средата с 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	приблизително от 48 до 72 часа

HROHep03 Клетки | 300197

Subculturing	Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.
Split ratio	от 1 до 3
Seeding density	2×10^4 клетки/см2
Fluid renewal	На всеки 3 до 5 дни
Post-Thaw Recovery	2 дни
Freeze medium	Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

HROHep03 Клетки | 300197

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.

2. При получаване съхранявайте незабавно криовиолата при температури под -150 °C, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.

3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура 37°C, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.

4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.

5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбъркате внимателно.

6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.

7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.

8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, овлажнена атмосфера.

Flask Coating

Няма

Freezing Procedure

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

HROHep03 Клетки | 300197

Shipping Conditions	Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед в утвърдени, изолирани опаковки с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.
Storage Conditions	За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството и молекулярен анализ

Sterility	Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма. За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.