

HROHep03 Celler | 300197

Generel information

Description

HROHep03 er en human hepatocellulær adenokarcinom-cellelinje, der er etableret ud fra en primær levertumor hos en 71-årig kaukasisk kvindelig patient inden for HRO-biobankserien af patientafledte tumorcellelinjer, som PD Dr. Michael Linnebacher har udviklet siden 2006. Tumoren blev klassificeret som et primært adenokarcinom i TNM-stadie T0NxMx, grad 3, hvilket afspejler et højgradigt hepatisk adenokarcinom uden bekræftet fjernmetastase på tidspunktet for vævsudtagningen. HROHep03 vokser som et adhærent monolag med fibroblastlignende morfologi og blev bekræftet fri for humane patogene vira (HBV, HCV og HIV), hvilket er i overensstemmelse med de strenge kvalitetskontrolstandarder i Linnebacher-biobankserien. Cellosaurus-accessionsnummeret er CVCL_2U72.

HROHep03 kan anvendes i forskning i hepatocellulært adenokarcinom, studier af biologien bag højgradige levertumorceller, test af lægemiddelfølsomhed og -resistens (sorafenib, cisplatin, 5-FU), analyser af levertumorerers invasion og migration samt analyse af molekulære signalveje. Som en del af HRO-biobanken udgør denne linje en patientspecifik biologisk ressource, der kan kombineres med matchende immunologisk materiale fra samme patient til brug i personlig onkologisk forskning. Dens fibroblastlignende morfologi adskiller den fænotypisk fra de mere almindelige hepatocytlignende HCC-linjer og kan afspejle epitel-til-mesenkymale træk, der er erhvervet under tumorprogression eller in vitro-tilpasning.

HROHep03 opbevares som en adhærent kultur i DMEM:Ham's F12 (1:1) tilsat 10 % FBS ved 37 °C i en befugtet atmosfære med 5 % CO₂. Cellerne subkultiveres med Accutase, når de er ca. 80–90 % konfluente. Mediet udskiftes hver 3.–5. dag; efter optøning skal der gå mindst 2 dage, før det første medieskift foretages.

Organism Menneske

Tissue Lever

Disease Primært adenokarcinom, T0NxMx-stadie, grad 3

Metastatic site Ikke relevant (TNM-stadium T0NxMx; ingen bekræftet fjernmetastase på tidspunktet for prøveudtagningen)

Applications Forskning i hepatocellulært adenokarcinom; modellering af højgradigt HCC; test af lægemiddelfølsomhed (sorafenib, cisplatin, 5-FU); invasion og migration af levertumorer; HRO-biobankundersøgelser med patientmatchede prøver

Karakteristika

Age 71 år

Gender Kvinde

Ethnicity Kaukasisk

Morphology Fibroblast-lignende

HROHep03 Celler | 300197

Cell type Fibroblastlignende (hepatocellulært karcinom)

Growth properties Vedhæftende

Regulatoriske data

Citation HROHep03 (Cytion katalognummer 300197)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_2U72

GMO Status Ingen genetisk modifikation; vildtype-cellelinje fra patientens leveradenokarcinom, etableret af PD Dr. Linnebacher. Bekræftet fri for HBV, HCV og HIV.

Biomolekylære data

Viruses Fri for humanpatogene vira HBV, HCV, HIV.

Håndtering

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L Glucose, w: 2,5 mM L-Glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM Sodium pyruvate, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820400a)

Supplements Suppler mediet med 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time ca. 48 til 72 timer

Subculturing Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspendere cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.

Split ratio 1 til 3

HROHep03 Celler | 300197**Seeding density** 2 x 10⁴ celler/cm²**Fluid renewal** Hver 3. til 5. dag**Post-Thaw Recovery** 2 dage**Freeze medium** Som kryopræserveringsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.**Thawing and Culturing Cells**

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under -150 °C for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et 37 °C varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved 300 x g i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, befugtet atmosfære.

HROHep03 Celler | 300197

Flask Coating Ingen

Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.