

HROHep03 Zellen | 300197

Allgemeine Informationen

Description

HROHep03 ist eine menschliche hepatozelluläre Adenokarzinom-Zelllinie, die aus dem primären Lebertumor einer 71-jährigen kaukasischen Patientin im Rahmen der HRO-Biobank-Reihe von patientenabgeleiteten Tumorzelllinien gewonnen wurde, die seit 2006 von PD Dr. Michael Linnebacher entwickelt wird. Der Tumor wurde als primäres Adenokarzinom im TNM-Stadium T0NxMx, Grad 3, klassifiziert, was ein hochgradiges Leberadenokarzinom ohne bestätigte Fernmetastasen zum Zeitpunkt der Gewebeentnahme widerspiegelt. HROHep03 wächst als adhärenente Monoschicht mit fibroblastenähnlicher Morphologie und wurde als frei von den humanpathogenen Viren HBV, HCV und HIV bestätigt, was den strengen Qualitätskontrollstandards der Linnebacher-Biobank-Reihe entspricht. Die Cellosaurus-Zugangsnummer lautet CVCL_2U72.

HROHep03 eignet sich für die Forschung am hepatozellulären Adenokarzinom, für Untersuchungen zur Biologie hochgradiger Lebertumorzellen, für Tests zur Arzneimittelsensitivität und -resistenz (Sorafenib, Cisplatin, 5-FU), für Assays zur Invasion und Migration von Lebertumoren sowie für die Analyse molekularer Signalwege. Als Teil der HRO-Biobank stellt diese Linie eine patientenspezifische biologische Ressource dar, die für die personalisierte onkologische Forschung mit passendem immunologischem Material desselben Patienten kombiniert werden kann. Ihre fibroblastenähnliche Morphologie unterscheidet sie phänotypisch von den häufiger vorkommenden hepatozytenähnlichen HCC-Linien und könnte epithel-mesenchymale Merkmale widerspiegeln, die im Verlauf der Tumorprogression oder durch In-vitro-Anpassung erworben wurden.

HROHep03 wird als adhärenente Kultur in DMEM:Ham's F12 (1:1), ergänzt mit 10 % FBS, bei 37 °C in einer befeuchteten 5 %-CO₂-Atmosphäre gehalten. Die Zellen werden mit Accutase subkultiviert, wenn sie zu etwa 80–90 % konfluent sind. Das Medium wird alle 3–5 Tage erneuert; nach dem Auftauen sollten vor dem ersten Mediumwechsel mindestens 2 Tage zur Erholung gewartet werden.

Organism Menschen

Tissue Leber

Disease Primäres Adenokarzinom, T0NxMx-Stadium, Grad 3

Metastatic site Nicht zutreffend (TNM-Stadium T0NxMx; zum Zeitpunkt der Probenentnahme keine bestätigten Fernmetastasen)

Applications Forschung zum hepatozellulären Adenokarzinom; Modellierung des hochgradigen HCC; Tests zur Arzneimittelsensitivität (Sorafenib, Cisplatin, 5-FU); Invasion und Migration von Lebertumoren; HRO-Biobank-Studien mit patientenspezifischen Proben

Merkmale

Age 71 Jahre

Gender Weiblich

HROHep03 Zellen | 300197**Ethnicity** Kaukasisch**Morphology** Fibroblastenähnlich**Cell type** Fibroblastenähnlich (Leberzellkarzinom)**Growth properties** Adhärent**Regulatorische Daten****Citation** HROHep03 (Cytion Katalognummer 300197)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_2U72**Depositor** M. Linnebacher**GMO Status** Keine genetische Veränderung; von PD Dr. Linnebacher etablierte Wildtyp-Zelllinie eines Leberadenokarzinoms, die von einem Patienten stammt. Bestätigt: frei von HBV, HCV und HIV.**Biomolekulare Daten****Viruses** Frei von humanpathogenen Viren HBV, HCV, HIV.**Handhabung****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 Natriumpyruvat, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (Cytion-Artikelnummer 820400a)**Supplements** Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** ca. 48 bis 72 Stunden

HROHep03 Zellen | 300197

Subculturing Entfernen Sie das alte Medium von den adhärenen Zellen und waschen Sie sie mit PBS, das kein Kalzium und Magnesium enthält. Für T25-Kolben 3-5 ml PBS und für T75-Kolben 5-10 ml verwenden. Anschließend werden die Zellen vollständig mit Accutase bedeckt, wobei 1-2 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben verwendet werden. Lassen Sie die Zellen 8-10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, um sie abzulösen. Nach der Inkubation mischen Sie die Zellen vorsichtig mit 10 ml Medium, um sie zu resuspendieren, und zentrifugieren sie dann 3 Minuten lang bei 300xg. Den Überstand verwerfen, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Kolben überführen, die bereits frisches Medium enthalten.

Split ratio 1 bis 3

Seeding density 2×10^4 Zellen/cm²

Fluid renewal Alle 3 bis 5 Tage

Post-Thaw Recovery 2 Tage

Freeze medium Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

HROHep03 Zellen | 300197

Thawing and Culturing Cells

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei $300 \times g$, um die Zellen abzutrennen, und werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhären Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , befeuchtete Atmosphäre.

Flask Coating

Keine

Freezing Procedure

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

HROHep03 Zellen | 300197

Shipping Conditions

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Storage Conditions

Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Qualitätskontrolle / Genetisches Profil / HLA

Sterility

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.

Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.

STR-Profil

Amelogenin: x,x
CSF1PO: 9,11
D13S317: 11,12
D16S539: 9,12
D5S818: 10,12
D7S820: 8,11
TH01: 7,9
TPOX: 8
vWA: 16,17
D3S1358: 15,16
D21S11: 30
D18S51: 12,17
D8S1179: 13,14
FGA: 19,22
D2S1338: 18,19
D19S433: 14,14.2
PEZ6: HB-CLS-2