

Κύτταρα HROHer03 | 300197

Γενικές πληροφορίες

Description

Η HROHer03 είναι μια ανθρώπινη κυτταρική σειρά ηπατοκυτταρικού αδενοκαρκινώματος που δημιουργήθηκε από πρωτοπαθή ηπατικό όγκο μιας 71χρονης γυναίκας καυκάσιας καταγωγής, στο πλαίσιο της σειράς βιοτράπεζας HRO με κυτταρικές σειρές όγκων που προέρχονται από ασθενείς, η οποία αναπτύχθηκε από τον PD Dr. Michael Linnebacher από το 2006. Ο όγκος ταξινομήθηκε ως πρωτοπαθές αδενοκαρκίνωμα στο στάδιο TNM T0NxMx, βαθμού 3, το οποίο αντανακλά ένα υψηλού βαθμού ηπατικό αδενοκαρκίνωμα χωρίς επιβεβαιωμένες απομακρυσμένες μεταστάσεις κατά τη στιγμή της λήψης του ιστού. Το HROHer03 αναπτύσσεται ως προσκολλητική μονοστρωματική καλλιέργεια με μορφολογία τύπου ινοβλαστών και επιβεβαιώθηκε ότι είναι απαλλαγμένο από ανθρώπινους παθογόνους ιούς HBV, HCV και HIV, σύμφωνα με τα αυστηρά πρότυπα ποιοτικού ελέγχου της σειράς της βιοτράπεζας Linnebacher. Ο αριθμός καταχώρισης στο Cellosaurus είναι CVCL_2U72.

Το HROHer03 μπορεί να χρησιμοποιηθεί στην έρευνα για το ηπατοκυτταρικό αδενοκαρκίνωμα, σε μελέτες της βιολογίας των κυττάρων ηπατικών όγκων υψηλού βαθμού, σε δοκιμές ευαισθησίας και αντοχής σε φάρμακα (σοραφενίμπη, σισπλατίνη, 5-FU), σε δοκιμασίες διήθησης και μετανάστευσης ηπατικών όγκων, καθώς και στην ανάλυση μοριακών οδών. Ως μέρος της βιοτράπεζας HRO, αυτή η σειρά παρέχει έναν βιολογικό πόρο ειδικό για κάθε ασθενή, ο οποίος μπορεί να συνδυαστεί με αντίστοιχο ανοσολογικό υλικό από τον ίδιο ασθενή για εξατομικευμένη ογκολογική έρευνα. Η μορφολογία της, που μοιάζει με ινοβλάστη, τη διακρίνει φαινοτυπικά από τις πιο συνηθισμένες σειρές HCC που μοιάζουν με ηπατοκύτταρα και μπορεί να αντανακλά χαρακτηριστικά μετατροπής από επιθηλιακά σε μεσεγχυματικά που αποκτήθηκαν κατά τη διάρκεια της εξέλιξης του όγκου ή της προσαρμογής in vitro.

Η HROHer03 διατηρείται ως προσκολλητική καλλιέργεια σε DMEM:Ham's F12 (1:1) συμπληρωμένο με 10% FBS στους 37°C σε υγρανθείσα ατμόσφαιρα 5% CO₂. Τα κύτταρα υποκαλλιεργούνται με Accutase όταν φτάσουν σε συγκέντρωση περίπου 80–90%. Το μέσο ανανεώνεται κάθε 3–5 ημέρες· μετά την απόψυξη, αφήστε τουλάχιστον 2 ημέρες για ανάρρωση πριν από την πρώτη αλλαγή μέσου.

Organism

Ανθρώπινο

Tissue

Ήπαρ

Disease

Πρωτοπαθές αδενοκαρκίνωμα, στάδιο T0NxMx, βαθμός 3

Metastatic site

Δεν ισχύει (στάδιο TNM T0NxMx· δεν είχε επιβεβαιωθεί η ύπαρξη απομακρυσμένων μεταστάσεων κατά τη στιγμή της λήψης του δείγματος)

Applications

Έρευνα για το ηπατοκυτταρικό αδενοκαρκίνωμα· μοντελοποίηση του HCC υψηλού βαθμού· δοκιμές ευαισθησίας σε φάρμακα (σοραφενίμπη, σισπλατίνη, 5-FU)· εισβολή και μετανάστευση των όγκων του ήπατος· μελέτες βιοτράπεζας HRO με αντιστοίχιση ασθενών

Χαρακτηριστικά

Age

71 χρόνια

Κύτταρα HROHep03 | 300197

Gender	Γυναίκα
Ethnicity	Καυκάσιος
Morphology	Ινοβλάστες που μοιάζουν με ινοβλάστες
Cell type	Τύπου ινοβλαστών (ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα)
Growth properties	Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation	HROHep03 (αριθμός καταλόγου Cytion 300197)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_2U72
GMO Status	Χωρίς γενετική τροποποίηση· σειρά κυττάρων ηπατικού αδενοκαρκινώματος «άγριου τύπου» που προέρχεται από ασθενή και δημιουργήθηκε από τον PD Dr. Linnebacher. Έχει επιβεβαιωθεί ότι είναι απαλλαγμένα από HBV, HCV και HIV.

Βιομοριακά δεδομένα

Viruses	Χωρίς ανθρώπινους παθογόνους ιούς HBV, HCV, HIV.
----------------	--

Χειρισμός

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L γλυκόζη, w: 2,5 mM L-γλουταμίνη, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM πυρουβικό νάτριο, w: 1,2 g/L NaHCO ₃ (αριθμός άρθρου Cytion 820400a)
Supplements	Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	περίπου 48 έως 72 ώρες

Κύτταρα HROHep03 | 300197

Subculturing Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.

Split ratio 1 έως 3

Seeding density 2×10^4 κύτταρα/cm²

Fluid renewal Κάθε 3 έως 5 ημέρες

Post-Thaw Recovery 2 ημέρες

Freeze medium Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Κύτταρα HROHep03 | 300197**Thawing and
Culturing Cells**

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρουφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρουφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Κανένα

**Freezing
Procedure**

Οι κρουσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Κύτταρα HROHer03 | 300197

Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196°C . Η αποθήκευση στους -80°C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

Sterility

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.