

## HROHep03 Solut | 300197

## Yleisiä tietoja

## Description

HROHep03 on ihmisen hepatosellulaarisen adenokarsinooman solulinja, joka on peräisin 71-vuotiaan valkoihoisen naispotilaan primaarisesta maksakasvaimesta. Se kuuluu HRO-biopankkisarjaan, joka koostuu potilaista peräisin olevista kasvainsolulinjoista ja jota PD Dr. Michael Linnebacher on kehittänyt vuodesta 2006 lähtien. Kasvain luokiteltiin primaariseksi adenokarsinoomaksi TNM-luokituksen mukaan vaiheessa T0NxMx, aste 3, mikä viittaa korkea-asteiseen maksa-adenokarsinoomaan ilman vahvistettuja etäpesäkkeitä kudoksen ottamishetkellä. HROHep03 kasvaa kiinnittyvänä yksikerroksena, jolla on fibroblastien kaltainen morfologia, ja sen on vahvistettu olevan vapaa ihmiselle patogeenisistä viruksista (HBV, HCV ja HIV), mikä on Linnebacherin biopankkisarjan tiukkojen laadunvalvontastandardien mukaista. Cellosaurus-rekisteröintinumero on CVCL\_2U72.

HROHep03 soveltuu hepatosellulaarisen adenokarsinooman tutkimukseen, korkea-asteisten maksakasvainsolujen biologian tutkimuksiin, lääkeherkkyys- ja resistenssitestaukseen (sorafenibi, sisplatiini, 5-FU), maksakasvaimen invaasio- ja migraatiomäärityksiin sekä molekyyli-reittien analysointiin. Osana HRO-biopankkia tämä linja tarjoaa potilaskohtaisen biologisen resurssin, joka voidaan yhdistää samalta potilaalta peräisin olevaan vastaavaan immunologiseen materiaaliin yksilöllisen onkologisen tutkimuksen tarpeisiin. Sen fibroblastien kaltainen morfologia erottaa sen fenotyypillisesti yleisemmistä hepatosyyttien kaltaisista HCC-kannoista ja saattaa heijastaa epiteeli-mesenkymaalaisia piirteitä, jotka ovat kehittyneet kasvaimen etenemisen tai in vitro -sopeutumisen aikana.

HROHep03-solulinjaa ylläpidetään kiinnittyvänä viljelmänä DMEM:Ham's F12 (1:1) -kasvatusliuoksessa, johon on lisätty 10 % FBS:ää, 37 °C:ssa kostutetussa 5 %:n CO<sub>2</sub>-ilmakehässä. Solut siirrostetaan Accutase-entsyymillä, kun ne ovat noin 80–90 %:n konfluenssissa. Kasvatusliuos uusitaan 3–5 päivän välein; sulatuksen jälkeen annetaan solujen toipua vähintään 2 päivää ennen ensimmäistä kasvatusliuoksen vaihtoa.

**Organism** Ihminen

**Tissue** Maksa

**Disease** Primaarinen adenokarsinooma, T0NxMx-vaihe, aste 3

**Metastatic site** Ei sovelleta (TNM-luokitus T0NxMx; näytteenottohetkellä ei vahvistettuja etäpesäkkeitä)

**Applications** Maksasolujen adenokarsinooman tutkimus; korkea-asteisen HCC:n mallintaminen; lääkeherkkyystestaus (sorafenibi, sisplatiini, 5-FU); maksakasvaimen invaasio ja migraatio; potilaisiin sovitettut HRO-biopankkitutkimukset

## Ominaisuudet

**Age** 71 vuotta

**Gender** Nainen

## HROHep03 Solut | 300197

<b>Ethnicity</b>	Kaukasialainen
------------------	----------------

<b>Morphology</b>	Fibroblastien kaltaiset
-------------------	-------------------------

<b>Cell type</b>	Fibroblastien kaltaiset (maksasyöpä)
------------------	--------------------------------------

<b>Growth properties</b>	Tarttuva
--------------------------	----------

## Säätelytiedot

<b>Citation</b>	HROHep03 (Cytionin luettelonumero 300197)
-----------------	---

<b>Biosafety level</b>	1
------------------------	---

<b>NCBI_TaxID</b>	9606
-------------------	------

<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_2U72
-----------------------------	-----------

<b>GMO Status</b>	Ei geneettisesti muunnettu; PD Dr. Linnebacherin perustama, potilaalta peräisin oleva villityyppinen maksan adenokarsinoomasolulinja. Vahvistettu HBV-, HCV- ja HIV-vapaaksi.
-------------------	---

## Biomolekyylitiedot

<b>Viruses</b>	Ei sisällä ihmisen patogeenisiä viruksia HBV, HCV, HIV.
----------------	---

## Käsittely

<b>Culture Medium</b>	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glukoosia, w: 2,5 mM L-glutamiinia, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natriumpyruvaattia, w: 1,2 g/L NaHCO <sub>3</sub> (Cytionin artikkelinumero 820400a)
-----------------------	---

<b>Supplements</b>	Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä
--------------------	---

<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
-----------------------------	----------

<b>Doubling time</b>	noin 48–72 tuntia
----------------------	-------------------

**HROHep03 Solut | 300197**

**Subculturing** Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.

**Split ratio** 1-3

**Seeding density**  $2 \times 10^4$  solua/cm<sup>2</sup>

**Fluid renewal** 3-5 päivän välein

**Post-Thaw Recovery** 2 päivää

**Freeze medium** Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

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

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

**Incubation  
Atmosphere**

37 °C, 5 %  $\text{CO}_2$ , kostutettu ilmakehä.

**Flask Coating**

Ei mitään

**Freezing  
Procedure**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

**Shipping  
Conditions**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

## HROHep03 Solut | 300197

### Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

## Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

### Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.