

HROHep03 Cellák | 300197

Általános információk

Description

A HROHep03 egy humán hepatocelluláris adenokarcinóma sejtvonal, amelyet egy 71 éves kaukázusi női beteg primer májdaganatából állítottak elő a PD Dr. Michael Linnebacher által 2006 óta fejlesztett, betegektől származó tumorsejtvonalakból álló HRO biobank-sorozat keretében. A daganatot primer adenokarcinómaként osztályozták, TNM-stádiuma T0NxMx, fokozata 3, ami egy magas fokozatú májadenokarcinómát tükröz, amelynek szövetszövetmintavételkor nem volt igazolt távoli áttétje. A HROHep03 fibroblaszt-szerű morfológiájú, adhézió monorétegként növekszik, és megerősítést nyert, hogy mentes a humán patogén HBV, HCV és HIV vírusoktól, összhangban a Linnebacher-biobank-sorozat szigorú minőség-ellenőrzési szabványjaival. A Cellosaurus-regisztrációs száma CVCL_2U72.

Az HROHep03 alkalmazható hepatocelluláris adenokarcinóma kutatásában, a magas fokozatú májdaganat-sejtek biológiájának vizsgálatában, gyógyszerérzékenységi és rezisztenciavizsgálatokban (sorafenib, ciszplatin, 5-FU), májdaganat-inváziós és migrációs vizsgálatokban, valamint molekuláris útvonalak elemzésében. Az HRO biobank részeként ez a vonal betegspecifikus biológiai erőforrást biztosít, amely személyre szabott onkológiai kutatások céljából párosítható ugyanazon betegtől származó, illeszkedő immunológiai anyaggal. Fibroblaszt-szerű morfológiája fenotípusilag megkülönbözteti a gyakoribb, hepatocita-szerű HCC-vonalaktól, és tükrözheti a tumorprogresszió vagy az in vitro adaptáció során kialakult epiteliális-mesenchimális jellemzőket.

A HROHep03-at adhéziós tenyészetként tartják fenn DMEM:Ham's F12 (1:1) tápközegben, 10% FBS-szel kiegészítve, 37 °C-on, párosított, 5% CO₂-tartalmú légkörben. A sejteket Accutase segítségével szubkultiválják, amikor a tenyészet körülbelül 80–90%-ban konfluens. A tápközeget 3–5 naponta cserélik; felolvasztás után az első tápközeg-cserét megelőzően legalább 2 napos regenerálódási időt kell biztosítani.

Organism

Emberi

Tissue

Máj

Disease

Primer adenokarcinóma, T0NxMx stádiumban, 3. fokozatú

Metastatic site

Nem alkalmazható (TNM-stádium: T0NxMx; a mintavétel időpontjában nem volt igazolt távoli áttét)

Applications

Hepatocelluláris adenokarcinóma kutatása; magas fokozatú HCC modellezése; gyógyszerérzékenységi vizsgálatok (sorafenib, ciszplatin, 5-FU); májdaganatok inváziója és migrációja; betegekhez illesztett HRO-biobanki vizsgálatok

Jellemzők

Age

71 év

Gender

Női

Ethnicity

Kaukázusi

HROHep03 Cellák | 300197

Morphology	Fibroblaszt-szerű
Cell type	Fibroblaszt-szerű (hepatocelluláris karcinóma)
Growth properties	Adherent

Szabályozási adatok

Citation	HROHep03 (Cytion katalógusszám: 300197)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_2U72
GMO Status	Génmódosítás nélkül; PD Dr. Linnebacher által létrehozott, betegből származó vad típusú májadenokarcinóma sejtvonal. Megerősítve, hogy HBV-, HCV- és HIV-mentes.

Biomolekuláris adatok

Viruses	HBV, HCV, HIV humán patogén vírusoktól mentes.
----------------	--

A kezelése

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glükóz, w: 2,5 mM L-Glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM nátrium-piruvát, w: 1,2 g/L NaHCO ₃ (Cytion 820400a cikkszám)
Supplements	A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	kb. 48–72 óra

HROHep03 Cellák | 300197

Subculturing	Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.
Split ratio	1-3
Seeding density	2×10^4 sejt/cm ²
Fluid renewal	3-5 naponta
Post-Thaw Recovery	2 nap
Freeze medium	Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

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

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150 °C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37 °C -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a krioüklét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C , 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

Nincs

**Freezing
Procedure**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

**Shipping
Conditions**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

HROHep03 Cellák | 300197

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.