

HROHep03 ląstelės | 300197

Bendra informacija

Description

HROHep03 – tai žmogaus hepatoceliulinės adenokarcinomos ląstelių linija, išskirta iš 71 metų amžiaus kaukazietės pacientės pirminio kepenų naviko, priklausanti HRO biobanko serijai, kurią sudaro iš pacientų paimtos naviko ląstelių linijos, kurias nuo 2006 m. kuria PD dr. Michael Linnebacher. Navikas buvo klasifikuotas kaip pirminė adenokarcinoma, atitinkanti TNM stadiją T0NxMx, 3 laipsnio, o tai rodo aukšto laipsnio kepenų adenokarcinomą be patvirtintų tolimųjų metastazių audinių paėmimo metu. „HROHep03“ auga kaip adhezyvinis monosluoksnis, pasižymintis fibroblastams būdinga morfologija, ir buvo patvirtinta, kad jame nėra žmogui patogeninių virusų HBV, HCV ir HIV, o tai atitinka griežtus „Linnebacher“ biobanko serijos kokybės kontrolės standartus. „Cellosaurus“ registracijos numeris yra CVCL_2U72.

HROHep03 tinka hepatoceliulinės adenokarcinomos tyrimams, aukšto laipsnio kepenų naviko ląstelių biologijos tyrimams, jautrumo vaistams ir atsparumo jiems tyrimams (sorafenibas, cisplatinas, 5-FU), kepenų naviko invazijos ir migracijos tyrimams bei molekulinės grandinės analizei. Kaip HRO biobanko dalis, ši linija suteikia pacientui būdingą biologinį išteklių, kuris gali būti suderintas su atitinkama to paties paciento imunologine medžiaga, siekiant atlikti individualizuotus onkologinius tyrimus. Jos fibroblastams būdinga morfologija fenotipiškai išskiria ją iš labiau paplitusių hepatocitams būdingų HCC linijų ir gali atspindėti epitelio-mezenchiminio perėjimo požymius, įgytus naviko progresavimo metu arba prisitaikant in vitro.

HROHep03 linija auginama kaip adhezyvinė kultūra DMEM:Ham's F12 (1:1) terpėje, papildytoje 10 % FBS, 37 °C temperatūroje drėgnoje 5 % CO₂ atmosferoje. Ląstelės perauginamos naudojant „Accutase“, kai jos pasiekia maždaug 80–90 % konfluencijos. Terpė keičiama kas 3–5 dienas; po atšildymo prieš pirmąjį terpės keitimą reikia palaukti mažiausiai 2 dienas, kad ląstelės atsigtų.

Organism Žmogus

Tissue Kepenys

Disease Pirminė adenokarcinoma, T0NxMx stadija, 3 laipsnio

Metastatic site Netaikoma (TNM stadija T0NxMx; mėginių paėmimo metu nebuvo patvirtinta tolimųjų metastazių)

Applications Hepatoceliulinės adenokarcinomos tyrimai; aukšto laipsnio HCC modeliavimas; vaistų jautrumo tyrimai (sorafenibas, cisplatinas, 5-FU); kepenų naviko invazija ir migracija; tyrimai su pacientams pritaikytais HRO biobanko mėginiais

Charakteristikos

Age 71 metai

Gender Moteris

Ethnicity Kaukaziečių

HROHep03 ląstelės | 300197

Morphology | fibroblastus panašus

Cell type Fibroblastų tipo (hepatoceliulinė karcinoma)

Growth properties Prigludęs

Reguliavimo duomenys

Citation HROHep03 (Cytion katalogo numeris 300197)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_2U72

GMO Status Genetiškai nemodifikuota; PD dr. Linnebacherio sukurta natūralaus tipo kepenų adenokarcinomos ląstelių linija, gauta iš paciento. Patvirtinta, kad ląstelės neapimtos HBV, HCV ir HIV.

Biomolekuliniai duomenys

Viruses Žmogaus patogeninių virusų HBV, HCV, ŽIV neturi.

Tvarkymas

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l gliukozės, w: 2,5 mM L-glutamino, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natrio piruvato, w: 1,2 g/l NaHCO₃ (Cytion gaminio numeris 820400a)

Supplements Papildykite terpę 10 % FBS

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time maždaug nuo 48 iki 72 valandų

Subculturing Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.

HROHep03 ląstelės | 300197**Split ratio** 1-3**Seeding density** 2×10^4 ląstelės/cm²**Fluid renewal** Kas 3-5 dienas**Post-Thaw Recovery** 2 dienos**Freeze medium**

Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150 °C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37 °C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

HROHep03 ląstelės | 300197

Incubation Atmosphere 37 °C, 5 %_{CO2}, drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating Nėra

Freezing Procedure Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Shipping Conditions Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Storage Conditions Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystą azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

Sterility Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.