

HROHep03 Šūnas | 300197

Vispārīga informācija

Description

HROHep03 ir cilvēka hepatocelulārās adenokarcinomas šūnu līnija, kas izveidota no 71 gadu vecas kaukāziešu izcelsmes sievietes primārā aknu audzēja un ietilpst HRO biobankas sērijā, kurā iekļautas no pacientiem iegūtas audzēja šūnu līnijas, ko kopš 2006. gada izstrādājis PD Dr. Michael Linnebacher. Audzējs tika klasificēts kā primāra adenokarcinoma TNM stadijā T0NxMx, 3. pakāpē, kas atspoguļo augstas pakāpes aknu adenokarcinomu bez apstiprinātām attālām metastāzēm audu ieguves brīdī. HROHep03 aug kā adhezīvs monoslānis ar fibroblastu līdzīgu morfoloģiju, un tika apstiprināts, ka tas nesatur cilvēkam patogēnus vīrusus HBV, HCV un HIV, kas atbilst Linnebacher biobankas sērijas stingriem kvalitātes kontroles standartiem. Cellosaurus reģistrācijas numurs ir CVCL_2U72.

HROHep03 ir piemērots hepatocelulārās adenokarcinomas pētījumiem, augstas pakāpes aknu audzēju šūnu bioloģijas izpētei, zāļu jutības un rezistences testēšanai (sorafenibs, cisplatīns, 5-FU), aknu audzēju invāzijas un migrācijas analīzēm, kā arī molekulāro ceļu analīzei. Kā daļa no HRO biobankas šī līnija nodrošina pacientam specifisku bioloģisko resursu, ko var apvienot ar atbilstošu imūnoloģisko materiālu no tā paša pacienta, lai veiktu personalizētus onkoloģiskos pētījumus. Tās fibroblastu līdzīgā morfoloģija fenotipiski to atšķir no izplatītākajām hepatocītu līdzīgajām HCC līnijām un var atspoguļot epitēlija-mezohinēzes pazīmes, kas iegūtas audzēja progresijas laikā vai in vitro adaptācijas procesā.

HROHep03 tiek uzturēta kā adhezīva kultūra DMEM:Ham's F12 (1:1) barotnē, kam pievienots 10 % FBS, 37 °C temperatūrā mitrinātā 5 % CO₂ atmosfērā. Šūnas tiek pārkultivētas ar Accutase, kad tās ir apmēram 80–90 % konfluentes. Barotni nomaina ik pēc 3–5 dienām; pēc atkausēšanas pirms pirmās barotnes nomainas jāpagaida vismaz 2 dienas, lai šūnas atgūtos.

Organism

Cilvēks

Tissue

Aknas

Disease

Primārā adenokarcinoma, T0NxMx stadija, 3. pakāpe

Metastatic site

Neattiecas (TNM stadija T0NxMx; parauga ņemšanas brīdī nav apstiprinātas tālās metastāzes)

Applications

Pētījumi par hepatocelulāro adenokarcinomu; augstas pakāpes HCC modelēšana; zāļu jutības testēšana (sorafenibs, cisplatīns, 5-FU); aknu audzēju invāzija un migrācija; pētījumi ar pacientiem atbilstošu HRO biobanku

Raksturojums

Age

71 gads

Gender

Sievietes

Ethnicity

Kaukāzietis

HROHep03 Šūnas | 300197

Morphology Fibroblastiem līdzīgs

Cell type Fibroblastu tipa (hepatocelulārā karcinoma)

Growth properties Adherent

Normatīvie dati

Citation HROHep03 (Cytion kataloga numurs 300197)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_2U72

GMO Status Nav ģenētiski modificēta; PD Dr. Linnebacher izveidota no pacienta iegūta aknu adenokarcinomas šūnu līnija ar savvaļas tipu. Apstiprināts, ka tā ir brīva no HBV, HCV un HIV.

Biomolekulārie dati

Viruses Nesatur cilvēka patogēnos vīrusus HBV, HCV, HIV.

Darbs ar

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glikozes, w: 2,5 mM L-glutamīna, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM nātrija piruvāta, w: 1,2 g/l NaHCO₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820400a)

Supplements Papildināt barotni ar 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time aptuveni 48 līdz 72 stundas

Subculturing Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.

HROHep03 Šūnas | 300197**Split ratio** no 1 līdz 3**Seeding density** 2×10^4 šūnas/cm²**Fluid renewal** Ik pēc 3 līdz 5 dienām**Post-Thaw Recovery** 2 dienas**Freeze medium** Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.**Thawing and Culturing Cells**

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausa ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

HROHep03 Šūnas | 300197

Incubation Atmosphere 37°C, 5%_{CO2}, mitrināta atmosfēra.

Flask Coating Nevieni

Freezing Procedure Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Shipping Conditions Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.