

HROHep03 Cellen | 300197

Algemene informatie

Description

HROHep03 is een menselijke hepatocellulaire adenocarcinoomcellijn die is geïsoleerd uit de primaire levertumor van een 71-jarige blanke vrouwelijke patiënt, als onderdeel van de HRO-biobankserie van uit patiënten afkomstige tumorcellijnen die sinds 2006 door PD Dr. Michael Linnebacher is ontwikkeld. De tumor werd geclassificeerd als een primair adenocarcinoom in TNM-stadium T0NxMx, graad 3, wat wijst op een hooggradig hepatisch adenocarcinoom zonder bevestigde metastasen op afstand op het moment van weefselafname. HROHep03 groeit als een hechtende monolaag met een fibroblastachtige morfologie en is vrij bevonden van de voor de mens pathogene virussen HBV, HCV en HIV, in overeenstemming met de strenge kwaliteitscontrolenormen van de Linnebacher-biobankserie. Het Cellosaurus-toegangsnummer is CVCL_2U72.

HROHep03 is geschikt voor onderzoek naar hepatocellulair adenocarcinoom, studies naar de biologie van hooggradige levertumorcellen, het testen van gevoeligheid en resistentie tegen geneesmiddelen (sorafenib, cisplatine, 5-FU), onderzoeken naar invasie en migratie van levertumoren, en analyse van moleculaire signaalwegen. Als onderdeel van de HRO-biobank biedt deze lijn een patiëntspecifieke biologische bron die kan worden gekoppeld aan bijbehorend immunologisch materiaal van dezelfde patiënt voor gepersonaliseerd oncologisch onderzoek. De fibroblastachtige morfologie onderscheidt deze lijn fenotypisch van de meer gangbare hepatocytachtige HCC-lijnen en kan wijzen op epitheliale-naar-mesenchymale kenmerken die zijn verworven tijdens de tumorprogressie of in vitro aanpassing.

HROHep03 wordt gekweekt als een hechtende cultuur in DMEM:Ham's F12 (1:1), aangevuld met 10% FBS, bij 37 °C in een bevochtigde atmosfeer met 5% CO₂. Cellen worden met Accutase gehercultiveerd wanneer ze ongeveer 80–90% confluent zijn. Het medium wordt om de 3–5 dagen ververs; na ontdoeien moet de celkweek ten minste 2 dagen de tijd krijgen om te herstellen voordat het medium voor het eerst wordt ververs.

Organism

Mens

Tissue

Lever

Disease

Primair adenocarcinoom, T0NxMx-stadium, graad 3

Metastatic site

Niet van toepassing (TNM-stadium T0NxMx; geen bevestigde metastasen op afstand op het moment van monsterafname)

Applications

Onderzoek naar hepatocellulair adenocarcinoom; modellering van hooggradig HCC; onderzoek naar de gevoeligheid voor geneesmiddelen (sorafenib, cisplatine, 5-FU); invasie en migratie van levertumoren; HRO-biobankonderzoeken afgestemd op patiënten

Kenmerken

Age

71 jaar

Gender

Vrouw

HROHep03 Cellen | 300197

Ethnicity	Kaukasisch
Morphology	Fibroblast-achtige
Cell type	Fibroblastachtig (hepatocellulair carcinoom)
Growth properties	Aanhangend

Regelgevende gegevens

Citation	HROHep03 (Cytion catalogusnummer 300197)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_2U72
Depositor	M. Linnebacher
GMO Status	Geen genetische modificatie; wildtype-celijn van leveradenocarcinoom afkomstig van een patiënt, opgezet door PD Dr. Linnebacher. Bevestigd vrij van HBV, HCV en HIV.

Biomoleculaire gegevens

Viruses	Vrij van humaanpathogene virussen HBV, HCV, HIV.
----------------	--

Omgaan met

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L Glucose, w: 2,5 mM L-Glutamine, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM Natriumpyruvaat, w: 1,2 g/L NaHCO ₃ (Cytion artikelnummer 820400a)
Supplements	Vul het medium aan met 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	ongeveer 48 tot 72 uur

HROHep03 Cellen | 300197

Subculturing Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenden en vervolgens centrifugeren bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.

Split ratio 1 tot en met 3

Seeding density 2×10^4 cellen/cm²

Fluid renewal Om de 3 tot 5 dagen

Post-Thaw Recovery 2 dagen

Freeze medium Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedum (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

HROHep03 Cellen | 300197

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij $300 \times g$ om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Geen

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

HROHep03 Cellen | 300197

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.

STR profiel

Amelogenin: x,x
CSF1PO: 9,11
D13S317: 11,12
D16S539: 9,12
D5S818: 10,12
D7S820: 8,11
TH01: 7,9
TPOX: 8
vWA: 16,17
D3S1358: 15,16
D21S11: 30
D18S51: 12,17
D8S1179: 13,14
FGA: 19,22
D2S1338: 18,19
D19S433: 14,14.2
PEZ6: HB-CLS-2