

HROHep03 Cells | 300197

Generell informasjon

Description

HROHep03 er en cellekultur av humant hepatocellulært adenokarsinom, etablert fra en primær levertumor hos en 71 år gammel kaukasisk kvinnelig pasient, og inngår i HRO-biobankserien av pasientavledede tumorcellekulturer utviklet av PD Dr. Michael Linnebacher siden 2006. Svulsten ble klassifisert som et primært adenokarsinom i TNM-stadium T0NxMx, grad 3, noe som indikerer et høygradig hepatisk adenokarsinom uten bekreftet fjernmetastase på tidspunktet for vevsutttaket. HROHep03 vokser som et vedheftende monolag med fibroblastlignende morfologi og ble bekreftet fri for humane patogene virus som HBV, HCV og HIV, i samsvar med de strenge kvalitetskontrollstandardene i Linnebacher-biobankserien. Cellosaurus-tilgangsnummeret er CVCL_2U72.

HROHep03 kan brukes i forskning på hepatocellulært adenokarsinom, studier av biologien til høygradige levertumorceller, testing av medikamentfølsomhet og -resistens (sorafenib, cisplatin, 5-FU), analyser av levertumorers invasjon og migrasjon samt analyse av molekylære signalveier. Som en del av HRO-biobanken utgjør denne linjen en pasientspesifikk biologisk ressurs som kan kombineres med tilhørende immunologisk materiale fra samme pasient for personlig tilpasset onkologisk forskning. Dens fibroblastlignende morfologi skiller den fenotypisk fra de mer vanlige hepatocyttilignende HCC-cellelinjene og kan reflektere epitel-til-mesenkymale trekk som er oppstått under tumorprogresjon eller in vitro-tilpasning.

HROHep03 opprettholdes som en vedheftende kultur i DMEM:Ham's F12 (1:1) tilsatt 10 % FBS ved 37 °C i en fuktet atmosfære med 5 % CO₂. Cellene subkultiveres med Accutase når de er ca. 80–90 % konfluente. Mediet skiftes ut hver 3.–5. dag; etter tining må cellene få minst 2 dager på seg til å komme seg før det første medieskiftet.

Organism

Menneskelig

Tissue

Lever

Disease

Primært adenokarsinom, T0NxMx-stadium, grad 3

Metastatic site

Ikke relevant (TNM-stadium T0NxMx; ingen bekreftet fjernmetastase på tidspunktet for prøvetaking)

Applications

Forskning på hepatocellulært adenokarsinom; modellering av høygradig HCC; testing av legemiddelfølsomhet (sorafenib, cisplatin, 5-FU); invasjon og migrasjon av levertumorceller; HRO-biobankstudier med pasienttilpassede prøver

Kjennetegn

Age

71 år

Gender

Kvinne

Ethnicity

Kaukasisk

HROHep03 Celler | 300197**Morphology** Fibroblastlignende**Cell type** Fibroblastlignende (hepatocellulært karsinom)**Growth properties** Vedhengende**Regulatoriske data****Citation** HROHep03 (Cytion-katalognummer 300197)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_2U72**Depositor** M. Linnebacher**GMO Status** Ingen genetisk modifisering; villtype-cellelinje fra patientens leveradenokarsinom, etablert av PD Dr. Linnebacher. Bekreftet fri for HBV, HCV og HIV.**Biomolekylære data****Viruses** Fri for humanpatogene virus HBV, HCV, HIV.**Håndtering****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glukose, w: 2,5 mM L-glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natriumpyruvat, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (Cytion artikkelnummer 820400a)**Supplements** Suppler mediet med 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** ca. 48 til 72 timer

HROHep03 Cells | 300197

Subculturing Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspender cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.

Split ratio 1 til 3

Seeding density 2×10^4 celler/cm²

Fluid renewal Hver 3. til 5. dag

Post-Thaw Recovery 2 dager

Freeze medium Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmoprotective midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoinduisert stress.

HROHep03 Cells | 300197

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

HROHep03 Cells | 300197

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.

STR-profil

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