

**HROHep03 Células | 300197****Informações gerais****Description**

A HROHep03 é uma linha celular de adenocarcinoma hepatocelular humano estabelecida a partir de um tumor hepático primário de uma doente caucasiana de 71 anos, no âmbito da série do biobanco HRO de linhas celulares tumorais derivadas de doentes, desenvolvida pelo PD Dr. Michael Linnebacher desde 2006. O tumor foi classificado como um adenocarcinoma primário no estágio TNM T0NxMx, grau 3, refletindo um adenocarcinoma hepático de alto grau sem metástases à distância confirmadas no momento da recolha do tecido. A linha HROHep03 cresce como uma monocamada aderente com morfologia semelhante à dos fibroblastos e foi confirmada como isenta de vírus patogénicos humanos (HBV, HCV e HIV), em conformidade com as rigorosas normas de controlo de qualidade da série do biobanco de Linnebacher. O número de acesso no Cellosaurus é CVCL\_2U72.

A HROHep03 é aplicável na investigação do adenocarcinoma hepatocelular, em estudos sobre a biologia das células tumorais hepáticas de alto grau, em testes de sensibilidade e resistência a fármacos (sorafenib, cisplatina, 5-FU), em ensaios de invasão e migração de tumores hepáticos e na análise de vias moleculares. Como parte do biobanco HRO, esta linha fornece um recurso biológico específico do doente que pode ser combinado com material imunológico correspondente do mesmo doente para investigação oncológica personalizada. A sua morfologia semelhante a fibroblastos distingue-a fenotipicamente das linhas de CHC mais comuns, semelhantes a hepatócitos, e pode refletir características epiteliais-mesenquimais adquiridas durante a progressão tumoral ou a adaptação in vitro.

A HROHep03 é mantida como cultura aderente em DMEM:Ham's F12 (1:1), suplementado com 10% de FBS, a 37 °C numa atmosfera humidificada com 5% de CO<sub>2</sub>. As células são subcultivadas com Accutase quando atingem aproximadamente 80–90% de confluência. O meio é renovado a cada 3–5 dias; após a descongelação, aguarde pelo menos 2 dias para recuperação antes da primeira troca de meio.

**Organism** Humano**Tissue** Fígado**Disease** Adenocarcinoma primário, estágio T0NxMx, grau 3**Metastatic site** Não aplicável (estágio TNM T0NxMx; sem metástases à distância confirmadas no momento da recolha da amostra)**Applications** Investigação sobre o adenocarcinoma hepatocelular; modelação do CHC de alto grau; testes de sensibilidade a fármacos (sorafenib, cisplatina, 5-FU); invasão e migração de tumores hepáticos; estudos com biobancos de HRO correspondentes aos doentes**Caraterísticas****Age** 71 anos**Gender** Feminino

**HROHep03 Células | 300197**

<b>Ethnicity</b>	Caucasiano
<b>Morphology</b>	Tipo fibroblastos
<b>Cell type</b>	Do tipo fibroblástico (carcinoma hepatocelular)
<b>Growth properties</b>	Aderente

**Dados regulamentares**

<b>Citation</b>	HROHep03 (número de catálogo Cytion 300197)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_2U72
<b>GMO Status</b>	Sem modificação genética; linha celular de adenocarcinoma hepático de tipo selvagem, derivada de um doente, estabelecida pelo Dr. Linnebacher. Confirmada como isenta de VHB, VHC e VIH.

**Dados biomoleculares**

<b>Viruses</b>	Isento de vírus patogénicos humanos HBV, HCV, HIV.
----------------	--

**Manuseamento**

<b>Culture Medium</b>	DMEM:Ham's F12 (1:1), com: 3,1 g/L de glucose, com: 2,5 mM de L-Glutamina, com: 15 mM de HEPES, com: 0,5 mM de piruvato de sódio, com: 1,2 g/L de NaHCO <sub>3</sub> (número de artigo Cytion 820400a)
<b>Supplements</b>	Completar o meio com 10% de FBS
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Doubling time</b>	aprox. 48 a 72 horas

## HROHep03 Células | 300197

**Subculturing** Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e, nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.

**Split ratio** 1 a 3

**Seeding density**  $2 \times 10^4$  células/cm<sup>2</sup>

**Fluid renewal** A cada 3 a 5 dias

**Post-Thaw Recovery** 2 dias

**Freeze medium** Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

## HROHep03 Células | 300197

### Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a  $-150^{\circ}\text{C}$  para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a  $37^{\circ}\text{C}$  com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfetando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfetado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a  $300 \times g$  durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , atmosfera humidificada.

### Flask Coating

Nenhum

### Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente  $-78^{\circ}\text{C}$  durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

## HROHep03 Células | 300197

### Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

### Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

## Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

### Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.