

HROHep03 Cells | 300197

Allmän information

Description

HROHep03 är en cellinje av humant hepatocellulärt adenokarcinom som etablerats från en primär levertumör hos en 71-årig kaukasisk kvinnlig patient inom HRO-biobankserien av patienthärledda tumörcellinjer, vilken utvecklats av PD Dr. Michael Linnebacher sedan 2006. Tumören klassificerades som ett primärt adenokarcinom i TNM-stadium T0NxMx, grad 3, vilket motsvarar ett höggradigt hepatiskt adenokarcinom utan bekräftad fjärrmetastasering vid tidpunkten för vävnadsuttaget. HROHep03 växer som ett vidhäftande monolager med fibroblastliknande morfologi och har bekräftats vara fritt från de humant patogena virusen HBV, HCV och HIV, vilket överensstämmer med de strikta kvalitetskontrollstandarderna för Linnebacher-biobankserien. Cellosaurus-accessionsnumret är CVCL_2U72.

HROHep03 är lämplig för forskning om hepatocellulärt adenokarcinom, studier av cellbiologi hos höggradiga levertumörer, testning av läkemedelskänslighet och -resistens (sorafenib, cisplatin, 5-FU), analyser av levertumörers invasion och migration samt analys av molekylära signalvägar. Som en del av HRO-biobanken utgör denna cellinje en patientspecifik biologisk resurs som kan kombineras med matchat immunologiskt material från samma patient för personaliserad onkologisk forskning. Dess fibroblastliknande morfologi skiljer den fenotypiskt från de vanligare hepatocytliknande HCC-linjerna och kan återspegla epitel-till-mesenkymala egenskaper som förvärvats under tumörprogression eller in vitro-anpassning.

HROHep03 odlas som en vidhäftande kultur i DMEM:Ham's F12 (1:1) kompletterat med 10 % FBS vid 37 °C i en fuktad atmosfär med 5 % CO₂. Cellerna subkultiveras med Accutase när de är cirka 80–90 % konfluenta. Mediet byts ut var 3–5:e dag; efter upptining ska cellerna få minst 2 dagar på sig att återhämta sig innan det första mediebytet sker.

Organism Människan

Tissue Lever

Disease Primärt adenokarcinom, T0NxMx-stadium, grad 3

Metastatic site Ej tillämpligt (TNM-stadium T0NxMx; inga bekräftade fjärrmetastaser vid tidpunkten för provtagningen)

Applications Forskning om hepatocellulärt adenokarcinom; modellering av höggradigt HCC; läkemedelskänslighetstester (sorafenib, cisplatin, 5-FU); invasion och migration av levertumörer; HRO-biobanksstudier med patientanpassade prover

Egenskaper

Age 71 år

Gender Kvinna

Ethnicity Kaukasisk

HROHep03 Celler | 300197**Morphology** Fibroblastliknande**Cell type** Fibroblastliknande (levercellscancer)**Growth properties** Följsam**Lagstadgade uppgifter****Citation** HROHep03 (Cytion katalognummer 300197)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_2U72**Depositor** M. Linnebacher**GMO Status** Ingen genetisk modifiering; vildtyp-cellinje från patientens leveradenokarcinom, etablerad av PD Dr. Linnebacher. Bekräftat fritt från HBV, HCV och HIV.**Biomolekylära data****Viruses** Fri från humanpatogena virus HBV, HCV, HIV.**Hantering****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L Glukos, w: 2,5 mM L-Glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM Natriumpyruvat, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820400a)**Supplements** Komplettera mediet med 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** ca 48 till 72 timmar

HROHep03 Celler | 300197

Subculturing Ta bort det gamla mediet från de adherenta cellerna och tvätta dem med PBS som saknar kalcium och magnesium. Använd 3-5 ml PBS för T25-kolvar och 5-10 ml för T75-kolvar. Täck sedan cellerna helt med Accutase, använd 1-2 ml för T25-kolvar och 2,5 ml för T75-kolvar. Låt cellerna inkubera i rumstemperatur i 8-10 minuter så att de lossnar. Efter inkubationen, blanda cellerna försiktigt med 10 ml medium för att resuspendera dem och centrifugera sedan vid 300xg i 3 minuter. Kassera supernatanten, resuspendera cellerna i färskt medium och överför dem till nya kolvar som redan innehåller färskt medium.

Split ratio 1 till 3

Seeding density 2×10^4 celler/cm²

Fluid renewal Var 3:e till 5:e dag

Post-Thaw Recovery 2 dagar

Freeze medium Som kryokonservationsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

HROHep03 Cells | 300197

Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfryst vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeshuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid $300 \times g$ i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkanter; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befuktad atmosfär.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

Shipping Conditions

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

HROHep03 Cells | 300197

Storage Conditions

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmediagnostik.

För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.

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