

HROHep03 Celice | 300197

Splošne informacije

Description

HROHep03 je celična linija človeškega hepatoceličnega adenokarcinoma, vzpostavljena iz primarnega jetrnega tumorja 71-letne belopolte pacientke v okviru serije HRO biobanke celičnih linij tumorjev, pridobljenih iz pacientov, ki jo od leta 2006 razvija PD dr. Michael Linnebacher. Tumor je bil razvrščen kot primarni adenokarcinom v TNM-stopnji T0NxMx, stopnje 3, kar odraža visokostopenjski jetrni adenokarcinom brez potrjenih oddaljenih metastaz v času odvzema tkiva. HROHep03 raste kot adhezivni monosloj z morfologijo, podobno fibroblastom, in je bil potrjen kot prost človeških patogenih virusov HBV, HCV in HIV, kar je v skladu s strogimi standardi nadzora kakovosti serije biobanke Linnebacher. Številka dostopa v bazi Cellosaurus je CVCL_2U72.

HROHep03 se lahko uporablja v raziskavah hepatoceličnega adenokarcinoma, študijah biologije visokostopenjskih jetrnih tumorskih celic, testiranju občutljivosti in odpornosti na zdravila (sorafenib, cisplatin, 5-FU), testih invazije in migracije jetrnih tumorjev ter analizi molekularnih poti. Kot del biobanke HRO ta linija zagotavlja biološki vir, specifičen za posameznega bolnika, ki ga je mogoče združiti z ustreznim imunološkim materialom istega bolnika za personalizirane onkološke raziskave. Njena fibroblastom podobna morfologija jo fenotipsko loči od bolj pogostih linij HCC, podobnih hepatocitom, in lahko odraža epitelno-mezenhimalne značilnosti, pridobljene med napredovanjem tumorja ali in vitro prilagajanjem.

HROHep03 se goji kot adhezivna kultura v DMEM:Ham's F12 (1:1), dopolnjenem z 10 % FBS, pri 37 °C v vlažni atmosferi s 5 % CO₂. Celice se subkultivirajo z Accutase, ko dosežejo približno 80–90 % konfluente. Gojilno sredstvo se zamenja vsakih 3–5 dni; po odmrznitvi je treba pred prvo zamenjavo gojilnega sredstva počakati vsaj 2 dni, da se celice opomorejo.

Organism

Človek

Tissue

Jetra

Disease

Primarni adenokarcinom, stadij T0NxMx, stopnja 3

Metastatic site

Ni relevantno (stopnja TNM T0NxMx; ob odvzemu vzorca ni bilo potrjenih oddaljenih metastaz)

Applications

Raziskave hepatoceličnega adenokarcinoma; modeliranje visokostopenjskega HCC; testiranje občutljivosti na zdravila (sorafenib, cisplatin, 5-FU); invazija in migracija jetrnih tumorjev; študije z biobanko HRO, prilagojene posameznim bolnikom

Značilnosti

Age

71 let

Gender

Ženske

Ethnicity

Kavkaški

HROHep03 Celice | 300197**Morphology** Fibroblastom podobni**Cell type** Fibroblastom podoben (hepatocelični karcinom)**Growth properties** Pripadajoče**Regulativni podatki****Citation** HROHep03 (katalogška številka Cytion 300197)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_2U72**GMO Status** Brez genskih sprememb; celična linija jetrnega adenokarcinoma divjega tipa, pridobljena iz bolnika, ki jo je vzpostavil PD dr. Linnebacher. Potrjeno, da ne vsebuje HBV, HCV in HIV.**Biomolekularni podatki****Viruses** Brez človeških patogenih virusov HBV, HCV in HIV.**Ravnanje s spletno stranjo****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glukoze, w: 2,5 mM L-glutamina, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natrijevega piruvata, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (številka izdelka Cytion 820400a)**Supplements** Gojišče dopolnite z 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** približno 48 do 72 ur**Subculturing** Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavrzite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.

HROHep03 Celice | 300197**Split ratio** 1 do 3**Seeding density** 2×10^4 celic/cm²**Fluid renewal** Vsakih 3 do 5 dni**Post-Thaw Recovery** 2 dni**Freeze medium**

Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročenga s kriom.

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu kriovial takoj shranite pri temperaturi pod -150 °C, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri 37 °C ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri 300 x g 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

HROHep03 Celice | 300197

Incubation Atmosphere 37 °C, 5 %_{CO2}, vlažno ozračje.

Flask Coating Nič

Freezing Procedure Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78 °C. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Shipping Conditions Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78 °C. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Storage Conditions Za dolgotrajno shranjevanje vialo postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

Sterility Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.