

HROHep03 Hücreleri | 300197

Genel bilgi

Description

HROHep03, PD Dr. Michael Linnebacher tarafından 2006 yılından bu yana geliştirilen, hastadan elde edilen tümör hücre hatları serisi olan HRO biyobankası kapsamında, 71 yaşındaki Kafkas kökenli bir kadın hastanın birincil karaciğer tümöründen oluşturulmuş bir insan hepatoselüler adenokarsinom hücre hattıdır. Tümör, TNM evresi T0NxMx, derece 3 olarak primer adenokarsinom olarak sınıflandırılmıştır; bu, doku alınımı sırasında doğrulanmış uzak metastazı olmayan yüksek dereceli bir hepatik adenokarsinomu yansıtmaktadır. HROHep03, fibroblast benzeri morfolojiye sahip yapışkan bir tek tabaka halinde büyür ve Linnebacher biyobank serisinin sıkı kalite kontrol standartlarına uygun olarak, insan patojenik virüsler olan HBV, HCV ve HIV içermediği doğrulanmıştır. Cellosaurus kayıt numarası CVCL_2U72'dir.

HROHep03, hepatoselüler adenokarsinom araştırmalarında, yüksek dereceli karaciğer tümör hücre biyolojisi çalışmalarında, ilaç duyarlılığı ve direnç testlerinde (sorafenib, sisplatin, 5-FU), karaciğer tümör invazyonu ve göç analizlerinde ve moleküler yolak analizlerinde kullanılabilir. HRO biyobankasının bir parçası olarak bu hat, kişiselleştirilmiş onkoloji araştırmaları için aynı hastadan alınan eşleşen immünojenik materyalle eşleştirilebilen, hastaya özgü bir biyolojik kaynak sunmaktadır. Fibroblast benzeri morfolojisi, onu fenotipik olarak daha yaygın olan hepatosit benzeri HCC hatlarından ayırır ve tümör ilerlemesi veya in vitro adaptasyon sırasında kazanılan epitelyal-mezenkimal özellikleri yansıtır olabilir.

HROHep03, %10 FBS ile takviye edilmiş DMEM:Ham's F12 (1:1) besiyerinde, nemlendirilmiş %5 CO₂ atmosferinde 37°C'de yapışkan kültür olarak muhafaza edilir. Hücreler, yaklaşık %80-90 konfluent hale geldiğinde Accutase kullanılarak alt kültüre alınır. Besiyeri her 3-5 günde bir yenilenir; çözüldükten sonra, ilk besiyeri değişiminden önce hücrelerin toparlanması için en az 2 gün bekleyin.

Organism

İnsan

Tissue

Karaciğer

Disease

Primer adenokarsinom, T0NxMx evre, derece 3

Metastatic site

Uygulanamaz (TNM evresi T0NxMx; numune alınma tarihinde doğrulanmış uzak metastaz yok)

Applications

Hepatoselüler adenokarsinom araştırmaları; yüksek dereceli HCC modellemesi; ilaç duyarlılık testleri (sorafenib, sisplatin, 5-FU); karaciğer tümörünün yayılması ve göçü; hastalarla eşleştirilmiş HRO biyobank çalışmaları

Özellikler

Age

71 yıl

Gender

Kadın

Ethnicity

Kafkas

Morphology

Fibroblast benzeri

Product sheet

HROHep03 Hücreleri | 300197

Cell type Fibroblast benzeri (hepatoselüler karsinom)

Growth properties Yapışık

Düzenleyici Veriler

Citation HROHep03 (Cytion katalog numarası 300197)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_2U72

GMO Status Genetik modifikasyon yapılmamıştır; PD Dr. Linnebacher tarafından oluşturulan, hastadan elde edilen vahşi tip hepatik adenokarsinom hücre hattı. HBV, HCV ve HIV içermediği doğrulanmıştır.

Biyomoleküler Veriler

Viruses İnsan patojenik virüsleri HBV, HCV, HIV içermez.

Elleçleme

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3.1 g/L Glukoz, w: 2.5 mM L-Glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0.5 mM Sodyum piruvat, w: 1.2 g/L NaHCO₃ (Cytion makale numarası 820400a)

Supplements Ortamı %10 FBS ile takviye edin

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time yaklaşık 48 ila 72 saat

Subculturing Yapışık hücrelerden eski ortamı çıkarın ve kalsiyum ve magnezyum içermeyen PBS ile yıkayın. T25 şişeleri için 3-5 ml PBS ve T75 şişeleri için 5-10 ml kullanın. Ardından, T25 flasklar için 1-2 ml ve T75 flasklar için 2,5 ml kullanarak hücreleri Accutase ile tamamen kaplayın. Hücreleri ayırmak için oda sıcaklığında 8-10 dakika inkübasyona bırakın. İnkübasyondan sonra, hücreleri yeniden süspansiyon etmek için 10 ml besiyeriyle hafifçe karıştırın, ardından 300xg'de 3 dakika santrifüjleyin. Süpernatantı atın, hücreleri taze besiyerinde yeniden süspansiyon edin ve zaten taze besiyeri içeren yeni şişelere aktarın.

Split ratio 1'den 3'e kadar

HROHep03 Hücreleri | 300197**Seeding density** 2 x 10⁴ hücre/cm²**Fluid renewal** Her 3 ila 5 günde bir**Post-Thaw Recovery** 2 gün**Freeze medium** Kriyoprezervasyon ortamı olarak, yeterli çözülme sonrası canlılık için tam büyüme ortamı (FBS dahil) + %10 DMSO veya iyileşmeyi artırmak ve kriyo-indüklenmiş stresi azaltmak için optimize edilmiş ozmoprotektanlar ve metabolik stabilizatörler içeren CM-1 (Cytion katalog numarası 800100) kullanıyoruz.**Thawing and Culturing Cells**

1. Hücreler taşıma sırasında optimum sıcaklıkları korumak için kuru buz üzerinde gönderildiğinden, flakonun teslimat sırasında derin dondurulmuş halde kaldığını teyit edin.
2. Teslim aldıktan sonra, hücresel bütünlüğün korunmasını sağlamak için kriyovialı hemen -150°C'nin altındaki sıcaklıklarda saklayın veya hemen kültürleme gerekiyorsa 3. adıma geçin.
3. Derhal kültürleme için flakonu temiz su ve antimikrobiyal bir madde içeren 37°C'lik bir su banyosuna daldırıp küçük bir buz kümesi kalana kadar 40-60 saniye boyunca hafifçe çalkalayarak hızlıca çözün.
4. Sonraki tüm adımları steril koşullar altında bir akış başlığı içinde gerçekleştirin ve açmadan önce kriyoviyalleri %70 etanol ile dezenfekte edin.
5. Dezenfekte edilmiş flakonu dikkatlice açın ve hücre süspansiyonunu 8 ml oda sıcaklığında kültür ortamı içeren 15 ml'lik bir santrifüj tüpüne aktarın ve hafifçe karıştırın.
6. Hücreleri ayırmak için karışımı 300 x g'de 3 dakika santrifüjleyin ve artık dondurma ortamı içeren süpernatantı dikkatlice atın.
7. Hücre peletini 10 ml taze kültür ortamında yavaşça yeniden süspansiyon edin. Yapışık hücreler için, süspansiyonu iki T25 kültür şişesi arasında bölün; süspansiyon kültürleri için, etkili hücre etkileşimini ve büyümesini teşvik etmek üzere tüm ortamı tek bir T25 şişesine aktarın.
8. Hücre hattının sürekli büyümesi ve bakımı için belirlenmiş alt kültür protokollerine uyun ve güvenilir deneysel sonuçlar elde edin.

Incubation Atmosphere 37°C, %5_{CO2}, nemlendirilmiş atmosfer.**Flask Coating** Yok

HROHep03 Hücreleri | 300197

Freezing Procedure

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

Shipping Conditions

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

Storage Conditions

Uzun süreli muhafaza için flakonları yaklaşık -150 ila -196 °C'de buhar fazlı sıvı nitrojen içine yerleştirin. 80 °C'de saklama yalnızca sıvı nitrojene aktarılmadan önce kısa bir ara adım olarak kabul edilebilir.

Kalite kontrol / Genetik profil / HLA

Sterility

Mikoplazma kontaminasyonu hem PCR tabanlı tahliller hem de lüminesans tabanlı mikoplazma tespit yöntemleri kullanılarak dışlanır.

Bakteriyel, fungal veya maya kontaminasyonu olmadığından emin olmak için hücre kültürleri günlük görsel incelemelere tabi tutulur.