

Клітини HROHer03 | 300197

Загальна інформація

Description

HROHer03 — це клітинна лінія гепатоцелюлярної аденокарциноми людини, отримана з первинної пухлини печінки 71-річної пацієнтки кавказької раси в рамках серії біобанку HRO, що складається з клітинних ліній пухлин, отриманих від пацієнтів, яку з 2006 року розвиває доктор наук Міхаель Ліннебахер. Пухлина була класифікована як первинна аденокарцинома на стадії TNM T0NxMx, 3-го ступеня, що свідчить про високодиференційовану аденокарциному печінки без підтверджених віддалених метастазів на момент забору тканини. HROHer03 росте у вигляді адгезивного моношару з фібробластоподібною морфологією; було підтверджено відсутність у ній патогенних для людини вірусів HBV, HCV та ВІЛ, що відповідає суворим стандартам контролю якості серії біобанку Ліннебахера. Номер зразка в базі даних Cellosaurus — CVCL_2U72.

HROHer03 застосовується у дослідженнях гепатоцелюлярної аденокарциноми, вивченні біології клітин пухлин печінки високого ступеня злоякісності, тестуванні чутливості та резистентності до лікарських препаратів (сорафеніб, цисплатин, 5-ФУ), аналізах інвазії та міграції пухлинних клітин печінки, а також аналізі молекулярних шляхів. Як частина біобанку HRO, ця лінія є біологічним ресурсом, специфічним для конкретного пацієнта, який можна поєднати з відповідним імунологічним матеріалом від того самого пацієнта для проведення персоналізованих онкологічних досліджень. Її фібробластоподібна морфологія фенотипічно відрізняє її від більш поширених гепатоцитоподібних ліній ГЦК і може відображати епітеліально-мезенхімальні особливості, набуті під час прогресування пухлини або адаптації in vitro.

Лінію HROHer03 культивують у вигляді адгезивної культури в середовищі DMEM:Ham's F12 (1:1), доповненому 10 % FBS, при температурі 37 °C у зволоженої атмосфері з 5 % CO₂. Субкультуру клітин проводять за допомогою Accutase, коли конфлюєнція досягає приблизно 80–90 %. Середовище оновлюють кожні 3–5 днів; після розморожування перед першою заміною середовища слід дати клітинам щонайменше 2 дні на відновлення.

Organism Людина

Tissue Печінка

Disease Первинна аденокарцинома, стадія T0NxMx, ступінь 3

Metastatic site Не застосовується (стадія за класифікацією TNM: T0NxMx; на момент взяття зразка підтверджених віддалених метастазів не виявлено)

Applications Дослідження гепатоцелюлярної аденокарциноми; моделювання гепатоцелюлярної карциноми високого ступеня злоякісності; тестування чутливості до лікарських препаратів (сорафеніб, цисплатин, 5-ФУ); інвазія та міграція пухлин печінки; дослідження на основі біобанку HRO, підбраного відповідно до пацієнтів

Характеристики

Age 71 рік

Клітини HROHep03 | 300197

| | |
|--------------------------|--|
| Gender | Жінка |
| Ethnicity | Кавказець |
| Morphology | Фібробластоподібні |
| Cell type | Фібробластоподібна (гепатоцелюлярна карцинома) |
| Growth properties | Адепт |

Нормативні дані

| | |
|-----------------------------|--|
| Citation | HROHep03 (номер за каталогом Cytion 300197) |
| Biosafety level | 1 |
| NCBI_TaxID | 9606 |
| CellosaurusAccession | CVCL_2U72 |
| GMO Status | Без генетичних модифікацій; клітинна лінія аденокарциноми печінки дикого типу, отримана від пацієнта, створена доктором наук Ліннебахером. Підтверджено відсутність HBV, HCV та ВІЛ. |

Біомолекулярні дані

| | |
|----------------|---|
| Viruses | Не містить патогенних для людини вірусів HBV, HCV, ВІЛ. |
|----------------|---|

Обробка

| | |
|-----------------------------|--|
| Culture Medium | DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 г/л Глюкоза, w: 2,5 мМ L-глутамін, w: 15 мМ HEPES, w: 0,5 мМ Піруват натрію, w: 1,2 г/л NaHCO ₃ (цит. номер 820400a) |
| Supplements | Додайте до середовища 10% FBS |
| Dissociation Reagent | Аккутаза |
| Doubling time | приблизно від 48 до 72 годин |

Клітини HROHer03 | 300197

Subculturing Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини акутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.

Split ratio від 1 до 3

Seeding density 2×10^4 клітини/cm²

Fluid renewal Кожні 3-5 днів

Post-Thaw Recovery 2 дні

Freeze medium Як середовище криоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

Клітини HROHer03 | 300197**Thawing and
Culturing Cells**

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче -150°C , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануливши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при $300 \times g$ протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтеся встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , волога атмосфера.

Flask Coating

Ні

**Freezing
Procedure**

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78°C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Клітини HROHer03 | 300197

Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірених ізольованих упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Storage Conditions

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості / Генетичний профіль / HLA

Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибкового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.