

Cellules HROHep03 | 300197

Renseignements généraux

Description

HROHep03 est une lignée cellulaire d'adénocarcinome hépatocellulaire humain issue d'une tumeur hépatique primaire d'une patiente caucasienne âgée de 71 ans, faisant partie de la série de lignées cellulaires tumorales dérivées de patients de la biobanque HRO, développée par le Dr Michael Linnebacher depuis 2006. La tumeur a été classée comme un adénocarcinome primaire au stade TNM T0NxMx, de grade 3, ce qui correspond à un adénocarcinome hépatique de haut grade sans métastases à distance confirmées au moment du prélèvement tissulaire. La lignée HROHep03 se développe sous forme de monocouche adhérente présentant une morphologie de type fibroblastique; elle a été confirmée exempte de virus pathogènes humains (VHB, VHC et VIH), conformément aux normes rigoureuses de contrôle de la qualité de la série de la biobanque Linnebacher.

La lignée HROHep03 peut être utilisée dans la recherche sur l'adénocarcinome hépatocellulaire, les études sur la biologie des cellules tumorales hépatiques de haut grade, les tests de sensibilité et de résistance aux médicaments (sorafénib, cisplatine, 5-FU), les essais d'invasion et de migration des tumeurs hépatiques, ainsi que l'analyse des voies moléculaires. Faisant partie de la biobanque HRO, cette lignée constitue une ressource biologique spécifique au patient pouvant être associée à du matériel immunologique apparié provenant du même patient pour la recherche oncologique personnalisée. Sa morphologie de type fibroblastique la distingue phénotypiquement des lignées de CHC de type hépatocytaire plus courantes et pourrait refléter des caractéristiques épithélio-mésenchymateuses acquises au cours de la progression tumorale ou de l'adaptation in vitro.

Organism

Humain

Tissue

Foie

Disease

Adénocarcinome primaire, stade T0NxMx, grade 3

Metastatic site

Sans objet (stade TNM T0NxMx; aucune métastase à distance confirmée au moment du prélèvement)

Applications

Recherche sur l'adénocarcinome hépatocellulaire; modélisation du CHC de haut grade; tests de sensibilité aux médicaments (sorafénib, cisplatine, 5-FU); invasion et migration des tumeurs hépatiques; études menées à partir d'une biobanque HRO appariée aux patients

Caractéristiques

Age

71 ans

Gender

Femme

Ethnicity

caucasien

Morphology

De type fibroblaste

Cellules HROHep03 | 300197

Cell type	De type fibroblastique (carcinome hépatocellulaire)
------------------	---

Growth properties	Adeptes
--------------------------	---------

Données réglementaires

Citation	HROHep03 (numéro de catalogue Cytion 300197)
-----------------	--

Biosafety level	1
------------------------	---

NCBI_TaxID	9606
-------------------	------

CellosaurusAccession	CVCL_2U72
-----------------------------	-----------

GMO Status	Sans modification génétique; lignée cellulaire d'adénocarcinome hépatique de type sauvage dérivée d'un patient, mise au point par le Dr Linnebacher. Certifiée exempte de VHB, de VHC et de VIH.
-------------------	--

Données biomoléculaires

Viruses	Exempt de virus pathogènes pour l'humain : VHB, VHC, VIH.
----------------	---

Manipulation

Culture Medium	DMEM : F12 de Ham (1:1), p/v : 3,1 g/L de glucose, p/v : 2,5 mM de L-glutamine, p/v : 15 mM d'HEPES, 0,5 mM de pyruvate de sodium, 1,2 g/L de NaHCO ₃ (référence Cytion 820400a)
-----------------------	---

Supplements	Ajouter 10 % de FBS au milieu de culture
--------------------	--

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

Doubling time	environ 48 à 72 heures
----------------------	------------------------

Subculturing	Retirez l'ancien milieu des cellules adhérentes et lavez-les avec du PBS sans calcium ni magnésium. Pour les flacons T25, utilisez 3 à 5 ml de PBS, et pour les flacons T75, utilisez 5 à 10 ml. Ensuite, recouvrez complètement les cellules d'Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laissez les cellules incuber à température ambiante pendant 8 à 10 minutes afin de les détacher. Après l'incubation, mélangez délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifugez à 300 x g pendant 3 minutes. Éliminez le surnageant, remettez les cellules en suspension dans du milieu frais, puis transférez-les dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.
---------------------	---

Cellules HROHep03 | 300197

Split ratio 1 à 3

Seeding density 2×10^4 cellules/cm²

Fluid renewal Tous les 3 à 5 jours

Post-Thaw Recovery 2 jours

Freeze medium Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (contenant du sérum fœtal bovin) + 10 % de DMSO pour assurer une viabilité adéquate après décongélation, ou du CM-1 (référence Cytion 800100), qui contient des osmoprotecteurs et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryoconservation.

Cellules HROHep03 | 300197

Thawing and Culturing Cells

1. Assurez-vous que le flacon reste bien congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche afin de maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. À la réception, conservez immédiatement le cryofiole à une température inférieure à -150°C pour garantir la préservation de l'intégrité cellulaire, ou passez à l'étape 3 si une culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une culture immédiate, décongelez rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C contenant de l'eau propre et un agent antimicrobien, en agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit morceau de glace.
4. Effectuez toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux laminaire, en désinfectant le cryotube avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrez avec précaution le flacon désinfecté et transférez la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant délicatement.
6. Centrifuger le mélange à $300 \times g$ pendant 3 minutes pour séparer les cellules, puis jeter avec précaution le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre délicatement le culot cellulaire en suspension dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension dans deux flacons de culture T25; pour les cultures en suspension, transférer la totalité du milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance cellulaires efficaces.
8. Respectez les protocoles de sous-culture établis pour assurer la croissance continue et le maintien de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , atmosphère humidifiée.

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées dans de la glace sèche, dans un emballage isotherme validé contenant suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78°C pendant tout le transport. À la réception, inspectez immédiatement le conteneur et transférez sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placez les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre environ -150 et -196°C . L'entreposage à -80°C n'est acceptable qu'à titre d'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Cellules HROHep03 | 300197

Contrôle de la qualité et analyse moléculaire

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes par luminescence.

Afin de s'assurer qu'il n'y a aucune contamination bactérienne, fongique ou par des levures, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.