Product sheet

Клетки HCC44 | 305456

Обща информация

Description	Клетъчната линия HCC44 е модел на недребноклетъчен белодробен карцином (NSCLC), известен с наличието на KRAS-мутация, която играе значителна роля в прогресирането на рака и резистентността към лечение. В проучване, изследващо характеристиките на NSCLC, причинен от KRAS, HCC44 беше идентифициран като зависим от маличен ензим 1 (ME1) за жизнеспособността си, което предполага, че мутацията KRAS в тази клетъчна линия усилва експресията на гени, участващи в метаболизма на глутамина и редокс баланса. Ролята на ME1 в генерирането на NADPH помага за противодействие на оксидативния стрес, което е особено важно за раковите клетки с мутация KRAS, претърпяващи бърза пролиферация. Допълнителни изследвания на природни съединения като аналози на хромомицина показаха потенциална терапевтична значимост за HCC44. Хромомицин SA2 и свързани молекули бяха оценени за техните цитотоксични ефекти върху HCC44, показвайки намалена ефикасност в сравнение с други аналози поради модификации в страничните вериги, които влияят на тяхното взаимодействие с ДНК. Освен това е проучена реакцията на клетъчната линия към лъчетерапията, което показва, че нарушаването на метаболизма на глутамина може да направи HCC44 по-чувствителен към радиацията, като потенциално преодолее някои аспекти на радиорезистентността, придадена от KRAS мутациите.
Organism	Човек
Tissue	Бял дроб
Disease	Аденокарцином
Synonyms	HCC-44, HCC0044, Онкологичен център „Хамон“ 44

Характеристики

Age	54 години
Gender	Жена
Ethnicity	Европейски
Morphology	Подобни на епител
Growth properties	Придържащи се

Регулаторни данни

Клетки HCC44 | 305456

Citation	HCC44 (каталожен номер на Cytion 305456)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_2060

Биомолекулярни данни

Mutational profile	Мутация: KRAS, p.Gly12Cys (c.34G>T), хомозиготна; Мутация: TERT, c.1-124C>A (c.228C>A); Мутация: TP53, p.Ser94Ter (c.281C>G), хомозиготна; Мутация: TP53, p.Arg175Leu (c.524G>T), хомозиготна

Работа с

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM стабилен глутамин, w: 2,0 g/L NaHCO3 (номер на статията в Cytion 820700a)
Supplements	Допълнете средата с 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.
Seeding density	1 до 3 x 10^4 клетки/cm^2
Fluid renewal	2 до 3 пъти седмично
Freeze medium	Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки HCC44 | 305456

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.

2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под -150 °C, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.

3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура 37 °C, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.

4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.

5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбъркате внимателно.

6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.

7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.

8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, овлажнена атмосфера.

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки HCC44 | 305456

Storage Conditions	За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството и молекулярен анализ

Sterility	Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма. За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.