Product sheet

Клетки HCC366 | 302155

Обща информация

Description	HCC366 е клетъчна линия на човешки белодробен аденосквамозен карцином, получена от злокачествен плеврален излив на 80-годишна пациентка от европейски произход в Онкологичния център „Хамон“ към Медицинския център „ЮТ Саутуестърн“. Аденосквамозният карцином е рядък смесен хистологичен подтип на недребноклетъчния белодробен карцином (NSCLC), съчетаващ характеристики както на аденокарцинома, така и на плоскоклетъчен карцином. HCC366 е включена в панелите на Cancer Dependency Map (DepMap), CCLE, COSMIC и MD Anderson Cell Lines Project. Клетъчната линия носи хомозиготна мутация TP53 p.Tyr220Cys (структурна мутация на домейна за свързване с ДНК) и хетерозиготна мутация ATM p.Pro534Ala. Тя не носи мутации-драйвери в гените KRAS, EGFR или STK11 и показва микросателитна стабилност (MSS). Времето за удвояване е приблизително 60–70 часа. HCC366 е приложима в изследванията на недребноклетъчния белодробен карцином (NSCLC), по-специално в проучвания на биологията на белодробния аденосквамозен карцином, която остава недостатъчно проучена в сравнение с подтиповете на чистия аденокарцином или плоскоклетъчния карцином. Ключовите приложения включват: проучвания на мутации с придобита функция на TP53; ATM-медииран отговор при увреждане на ДНК; тестване на чувствителност и резистентност към химиотерапия (цисплатин, паклитаксел, гемцитабин); оценка на целеви лекарствени средства; профилиране на лекарствената чувствителност в рамките на DepMap и CCLE; откриване на биомаркери за NSCLC със смесена хистология; сравнителна геномика; и протеомно/транскриптомно профилиране. HCC366 е допринесъл също така за изследвания на клетъчната биология на белодробния рак, включително механизмите на пролиферация, миграция и инвазия, свързани с злокачествени плеврални заболявания.
Organism	Човек
Tissue	Бял дроб
Disease	Недребноклетъчен рак на белия дроб
Metastatic site	Злокачествен плеврален излив (място на вземане на пробата)
Applications	Изследвания върху недребноклетъчния белодробен карцином (NSCLC); биология на аденосквамозния карцином на белия дроб; проучвания върху придобиването на функция на TP53 p.Tyr220Cys; реакция на ATM към увреждане на ДНК; чувствителност към химиотерапия (цисплатин, паклитаксел, гемцитабин); профилиране на лекарствената чувствителност чрез DepMap/CCLE; откриване на биомаркери; сравнителна геномика на NSCLC; биология на злокачествените плеврални заболявания
Synonyms	HCC-366, HCC0366, Hamon Cancer Center 366

Характеристики

Age	80 години

Клетки HCC366 | 302155

Gender	Жена
Ethnicity	Европейски
Morphology	Подобни на епител
Cell type	Епителни клетки
Growth properties	Монослой, прилепнал

Регулаторни данни

Citation	HCC366 (каталожен номер 302155 на Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_2059
GMO Status	Без генетична модификация; клетъчна линия от див тип NSCLC с ендогенни соматични мутации (TP53 p.Tyr220Cys хомозиготна; ATM p.Pro534Ala хетерозиготна)

Биомолекулярни данни

MSI-status	MSS
Mutational profile	TP53 p.Tyr220Cys (c.659A>G) хомозиготен; ATM p.Pro534Ala (c.1600C>G) хетерозиготен

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% топлинно активиран FBS
Dissociation Reagent	Accutase

Клетки HCC366 | 302155

Doubling time	около 60 до 70 часа
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.
Split ratio	от 1 до 5
Seeding density	от 1 до 3×10^4 клетки/см^2
Fluid renewal	2 до 3 пъти седмично
Post-Thaw Recovery	След размразяването разпределете клетките в култура с плътност 5×10^4 клетки/см^2 и изчакайте поне 24 часа, докато се прикрепят, преди първата смяна на средата.
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 HCC366 | 302155

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 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.
Flask Coating	Няма
Freezing Procedure	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 HCC366 | 302155

Shipping Conditions	Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед в утвърдени, изолирани опаковки 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.
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.