

Buňky HCC44 | 305456

Obecné informace

Description

Buněčná linie HCC44 je model nemalobuněčného karcinomu plic (NSCLC), který je známý tím, že nese mutaci genu KRAS, jenž hraje významnou roli v progresi nádoru a rezistenci na léčbu. Ve studii zkoumající charakteristiky NSCLC způsobené mutací KRAS bylo zjištěno, že životaschopnost buněk HCC44 závisí na enzymu ME1 (malic enzyme 1), což naznačuje, že mutace KRAS v této buněčné linii zvyšuje expresi genů podílejících se na metabolismu glutaminu a redoxní rovnováze. Úloha enzymu ME1 při tvorbě NADPH pomáhá potlačovat oxidační stres, což je obzvláště důležité pro rakovinné buňky s mutací KRAS, které procházejí rychlou proliferací.

Další výzkum přírodních sloučenin, jako jsou analogy chromomycinu, ukázal potenciální terapeutický význam pro HCC44. Chromomycin SA2 a příbuzné molekuly byly hodnoceny z hlediska jejich cytotoxických účinků na HCC44 a vykazovaly sníženou účinnost ve srovnání s jinými analogy kvůli modifikacím v postranních řetězcích, které ovlivňují jejich interakci s DNA. Dále byla studována reakce buněčné linie na radiační terapii, což naznačuje, že narušení metabolismu glutaminu by mohlo zvýšit citlivost HCC44 na záření, což by potenciálně mohlo překonat některé aspekty radioresistence způsobené mutacemi KRAS.

Organism

Člověk

Tissue

Plíce

Disease

Adenokarcinom

Synonyms

HCC-44, HCC0044, Hamonovo onkologické centrum 44

Charakteristika

Age

54 let

Gender

Ženy

Ethnicity

Evropská

Morphology

Epitelu podobné

Growth properties

Adherentní

Regulační údaje

Citation

HCC44 (katalogové číslo Cytion 305456)

Buňky HCC44 | 305456

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_2060

Biomolekulární data

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

Zpracování

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilní glutamin, w: 2,0 g/l NaHCO ₃ (číslo výrobku Cytion 820700a)
----------------	--

Supplements	Doplňte médium o 10% FBS
-------------	--------------------------

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

Subculturing	Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.
--------------	--

Seeding density	1 až 3 x 10 ⁴ buněk/cm ²
-----------------	--

Fluid renewal	2 až 3krát týdně
---------------	------------------

Freeze medium	Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.
---------------	--

Buňky HCC44 | 305456**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstřeďte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

**Shipping
Conditions**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

**Storage
Conditions**

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality a molekulární analýza

Buňky HCC44 | 305456

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálnímu kontrolám.