

Buňky HCC70 | 305464

Obecné informace

Description

Buněčná linie HCC70 je odvozena od triple-negativního karcinomu prsu (TNBC), což je podtyp, který postrádá expresi estrogenových, progesteronových a HER2 receptorů, což ztěžuje jeho léčbu kvůli omezeným možnostem cílené terapie. Buňky HCC70 se vyznačují tím, že jsou v rámci podtypů TNBC klasifikovány jako bazálně podobné 1 (BL1), což ovlivňuje jejich odpověď na chemoterapii a léčebné strategie. Důležité je, že buňky HCC70 exprimují estrogenový receptor GPR30 spřažený s G-proteinem ve významném množství. GPR30 je spojován s rychlou signální odpovědí na estrogény, jako je 17 β -estradiol, a ovlivňuje buněčnou proliferaci a další onkogenní dráhy.

Klíčovou genetickou charakteristikou HCC70 je přítomnost mutace TP53, konkrétně varianty R248Q. Tato mutace je spojena s fenotypy GOF (gain-of-function), které přispívají k přežívání a agresivnímu chování nádorových buněk. Ve studiích byla mutace R248Q v buňkách HCC70 spojena se zvýšenou deformovatelností buněk a změněnou lokalizací PARP1, což znamená potenciální citlivost na inhibitory PARP.

Výzkum reakcí na léčiva u buněčných linií HCC70 a podobných buněk TNBC zdůraznil účinnost inhibitorů proteazomu a léčby založené na platině. Tyto léčebné postupy se ukázaly jako slibné, přičemž léky jako bortezomib vykazují cytotoxické účinky. Vzájemné působení mezi rezistencí na chemoterapeutika a specifickou receptorovou signalizací, jako je například signalizace zprostředkovaná GPR30, podtrhuje složitost cílení na podtypy TNBC, jako jsou ty, které modeluje HCC70.

Organism

Člověk

Tissue

Mléčná žláza

Disease

Duktální karcinom prsu

Synonyms

HCC-70, HCC 70, HCC0070, Hamon Cancer Center 70

Charakteristika

Age

49 let

Gender

Ženy

Ethnicity

Afroameričan

Morphology

Epitelu podobné

Cell type

Epitelová buňka

Growth properties

Adherentní

Buňky HCC70 | 305464

Regulační údaje

Citation	HCC70 (katalogové číslo Cytion 305464)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1270

Biomolekulární data

Protein expression	Epiteliální glykoprotein 2 (EGP2), cytokeratin 19
Oncogenes	Her2/neu-, p53+ (nadměrná exprese)

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.
Split ratio	Pro běžné kultivace se doporučuje poměr 1:4 až 1:6.
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 HCC70 | 305464**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmražená, 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.

Flask Coating

Žádný

**Freezing
Procedure**

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.

**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.

Buňky HCC70 | 305464

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

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 vizuální kontrolám.