Product sheet

Κύτταρα HCC44 | 305456

Γενικές πληροφορίες

Description	Η κυτταρική σειρά HCC44 είναι ένα μοντέλο μη μικροκυτταρικού καρκίνου του πνεύμονα (NSCLC) γνωστό για την παρουσία μιας μετάλλαξης στο γονίδιο KRAS, η οποία διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην εξέλιξη του καρκίνου και στην ανθεκτικότητα στη θεραπεία. Σε μια μελέτη που διερεύνησε τα χαρακτηριστικά του NSCLC που προκαλείται από το KRAS, διαπιστώθηκε ότι η HCC44 εξαρτάται από το ένζυμο 1 της μηλικής οξέος (ME1) για τη βιωσιμότητά της, γεγονός που υποδηλώνει ότι η μετάλλαξη KRAS σε αυτή τη κυτταρική σειρά ενισχύει την έκφραση γονιδίων που εμπλέκονται στο μεταβολισμό της γλουταμίνης και στην οξειδοαναγωγική ισορροπία. Ο ρόλος του ME1 στη δημιουργία NADPH βοηθά στην αντιμετώπιση του οξειδωτικού στρες, το οποίο είναι ιδιαίτερα ζωτικής σημασίας για τα καρκινικά κύτταρα με μετάλλαξη KRAS που υφίστανται ταχεία πολλαπλασιασμό. Περαιτέρω έρευνα σε φυσικές ενώσεις όπως τα ανάλογα της χρωμομυκίνης έχει δείξει πιθανή θεραπευτική σημασία για το HCC44. Η χρωμομυκίνη SA2 και συναφείς μοριακές ενώσεις αξιολογήθηκαν ως προς τις κυτταροτοξικές τους επιδράσεις στο HCC44, παρουσιάζοντας μειωμένη δραστικότητα σε σύγκριση με άλλα ανάλογα λόγω τροποποιήσεων στις πλευρικές αλυσίδες που επηρεάζουν την αλληλεπίδρασή τους με το DNA. Επιπλέον, έχει μελετηθεί η απόκριση της κυτταρικής σειράς στην ακτινοθεραπεία, υποδεικνύοντας ότι η διαταραχή του μεταβολισμού της γλουταμίνης θα μπορούσε να ευαισθητοποιήσει το HCC44 στην ακτινοβολία, ξεπερνώντας ενδεχομένως ορισμένες πτυχές της ακτινοανθεκτικότητας που προσδίδουν οι μεταλλάξεις του KRAS.
Organism	Ανθρώπινο
Tissue	Πνεύμονας
Disease	Αδενοκαρκίνωμα
Synonyms	HCC-44, HCC0044, Κέντρο Καρκίνου Hamon 44

Χαρακτηριστικά

Age	54 χρόνια
Gender	Γυναίκα
Ethnicity	Ευρωπαϊκό
Morphology	Επιθηλιοειδής
Growth properties	Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

Κύτταρα HCC44 | 305456

Citation	HCC44 (αριθμός καταλόγου Cytion 305456)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_2060

Βιομοριακά δεδομένα

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

Χειρισμός

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM σταθερής γλουταμίνης, w: 2,0 g/L NaHCO3 (αριθμός άρθρου Cytion 820700a)
Supplements	Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.
Seeding density	1 έως 3 x 10^4 κύτ^{ταρα}/cm^2
Fluid renewal	2 έως 3 φορές την εβδομάδα
Freeze medium	Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Κύτταρα HCC44 | 305456

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.

2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.

3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.

4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.

5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.

6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.

7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.

8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, υγροποιημένη ατμόσφαιρα.

Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Έλεγχος ποιότητας και μοριακή ανάλυση

Sterility	Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια. Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.