

Κύτταρα HTh-7 | 305128

Γενικές πληροφορίες

Description

Η κυτταρική σειρά HTh-7 αποτελεί μοντέλο ανπλαστικού καρκινώματος του θυρεοειδούς (ATC) του ανθρώπου, το οποίο χρησιμοποιείται ευρέως για τη μελέτη της επιθετικής φύσης αυτής της κακοήθειας. Το ATC χαρακτηρίζεται από ταχεία εξέλιξη, ανθεκτικότητα στις συμβατικές θεραπείες και κακή πρόγνωση. Τα κύτταρα HTh-7 παρουσιάζουν σύνθετες χρωμοσωμικές ανωμαλίες τυπικές του ATC, συμπεριλαμβανομένων συγκεκριμένων κερδών και απωλειών χρωμοσωμικών περιοχών, όπως το χρωμόσωμα 20q, οι οποίες σχετίζονται με την εξέλιξη του καρκίνου. Αυτά τα κύτταρα δεν φέρουν τη συνηθισμένη μετάλλαξη BRAF V600E, η οποία είναι συχνή στο θηλώδες καρκίνωμα του θυρεοειδούς αλλά λιγότερο συχνή στο ATC, υπογραμμίζοντας την ποικιλομορφία των ογκογονικών παραγόντων σε διαφορετικούς καρκίνους του θυρεοειδούς.

Ο περαιτέρω γονιδιωματικός χαρακτηρισμός της κυτταρικής σειράς HTh-7 αποκαλύπτει συχνές μεταλλάξεις στον προαγωγό TERT, ένα χαρακτηριστικό γνώρισμα των επιθετικών καρκίνων του θυρεοειδούς. Τα κύτταρα εμφανίζουν μια διαγραφή στο αντίγραφο TERT του άγριου τύπου, υποδηλώνοντας την παρουσία μιας ομόζυγης μετάλλαξης στον προαγωγό TERT, η οποία πιθανώς συμβάλλει στον επιθετικό τους φαινότυπο προωθώντας την ενεργοποίηση της τελομεράσης. Τα κύτταρα HTh-7 φέρουν επίσης μεταλλάξεις στο γονίδιο TP53, οδηγώντας σε πλήρη απώλεια της λειτουργίας του p53, ένα συχνό φαινόμενο στο ATC και παράγοντα γονιδιακής αστάθειας. Αυτή η απώλεια λειτουργίας συχνά συνδυάζεται με άλλες μεταλλάξεις, όπως στο PTEN και σε γονίδια που εμπλέκονται στην οδό PI3K/AKT/mTOR, υπογραμμίζοντας περαιτέρω τη χρησιμότητα του HTh-7 ως μοντέλου για τη μελέτη των μοριακών βάσεων του ATC.

Τα κύτταρα HTh-7 παρουσιάζουν επίσης σημαντική αποδιαφοροποίηση, όπως αποδεικνύεται από τους χαμηλούς δείκτες διαφοροποίησης του θυρεοειδούς (TDS), παρόμοιους με εκείνους των όγκων ATC. Αυτή η αποδιαφοροποίηση είναι χαρακτηριστική των προχωρημένων καρκίνων του θυρεοειδούς και αντανακλάται στη βαθιά απώλεια της έκφρασης γονιδίων ειδικών για τον θυρεοειδή, καθιστώντας το HTh-7 ένα ιδανικό μοντέλο για τη διερεύνηση των μηχανισμών αποδιαφοροποίησης του καρκίνου του θυρεοειδούς και των σχετικών θεραπευτικών προκλήσεων. Το γενετικό προφίλ της κυτταρικής σειράς, συμπεριλαμβανομένων των μεταλλάξεων στα γονίδια TP53 και TERT, υπογραμμίζει τη σημασία της για προκλινικές μελέτες που στοχεύουν στην εξερεύνηση νέων θεραπευτικών προσεγγίσεων για τον ATC, ιδίως εκείνων που στοχεύουν σε μονοπάτια που εμπλέκονται στη διατήρηση των τελομερών και σε μηχανισμούς που σχετίζονται με το p53.

Organism	Ανθρώπινο
Tissue	Θυρεοειδής
Disease	Αναπλαστικό καρκίνωμα του θυρεοειδούς αδένα
Synonyms	Hth7, HTh 7, HTh-7, Uhth-7, U-hth7, U-Hth7

Χαρακτηριστικά

Age	74 χρόνια
Gender	Γυναίκα

Κύτταρα HTh-7 | 305128

Morphology	Επιθηλιακό
Growth properties	Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation	HTh-7 (αριθμός καταλόγου Cytion 305128)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_6289

Βιομοριακά δεδομένα**Χειρισμός**

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,1 mM σταθερή γλουταμίνη, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (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 3×10^4 κύτταρα/cm ²
------------------------	---

Fluid renewal	2 έως 3 φορές την εβδομάδα
----------------------	----------------------------

Κύτταρα HTh-7 | 305128**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.

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 $300 \times g$ 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% CO_2 , υγραποιημένη 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.

Κύτταρα HTh-7 | 305128

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.