Product sheet

Κύτταρα HCC366 | 302155

Γενικές πληροφορίες

Description	Η HCC366 είναι μια κυτταρική σειρά ανθρώπινου αδενοπλακώδους καρκινώματος του πνεύμονα, η οποία δημιουργήθηκε από την κακοήθη πλευρική συλλογή μιας 80χρονης Ευρωπαίας ασθενούς στο Hamon Cancer Center του UT Southwestern Medical Center. Το αδενοπλακώδες καρκίνωμα είναι ένας σπάνιος μικτός ιστολογικός υποτύπος του μη μικροκυτταρικού καρκίνου του πνεύμονα (NSCLC) που συνδυάζει χαρακτηριστικά τόσο του αδενοκαρκινώματος όσο και του πλακώδους καρκινώματος. Η HCC366 περιλαμβάνεται στους πίνακες του Cancer Dependency Map (DepMap), του CCLE, των κυτταρικών σειρών COSMIC και του MD Anderson Cell Lines Project. Η κυτταρική σειρά φέρει μια ομόζυγη μετάλλαξη TP53 p.Tyr220Cys (μια δομική μετάλλαξη της περιοχής πρόσδεσης στο DNA) και μια ετερόζυγη μετάλλαξη ATM p.Pro534Ala. Δεν φέρει μεταλλάξεις-οδηγούς στα γονίδια KRAS, EGFR ή STK11 και παρουσιάζει σταθερότητα μικροδορυφόρων (MSS). Ο χρόνος διπλασιασμού είναι περίπου 60–70 ώρες. Η HCC366 είναι κατάλληλη για έρευνα στον τομέα του μη μικροκυτταρικού καρκίνου του πνεύμονα (NSCLC), ιδίως σε μελέτες της βιολογίας του αδενοπλακώδους καρκινώματος του πνεύμονα, το οποίο παραμένει ελάχιστα μελετημένο σε σύγκριση με τους υποτύπους του καθαρού αδενοκαρκινώματος ή του πλακώδους καρκινώματος. Οι βασικές εφαρμογές περιλαμβάνουν: μελέτες μεταλλάξεων κέρδους λειτουργίας του TP53· την απόκριση σε βλάβες του DNA που μεσολαβείται από το ATM· δοκιμές ευαισθησίας και αντοχής στη χημειοθεραπεία (σισπλατίνη, πακλιταξέλη, γεμσιταβίνη)· την αξιολόγηση στοχευμένων παραγόντων· τη δημιουργία προφίλ ευαισθησίας στα φάρμακα στα πλαίσια των συστημάτων DepMap και CCLE· την ανακάλυψη βιοδεικτών για το NSCLC μικτής ιστολογίας· τη συγκριτική γονιδιωματική· και τη δημιουργία πρωτεομικών/μεταγραφωματικών προφίλ. Η σειρά HCC366 έχει επίσης συμβάλει σε μελέτες της κυτταρικής βιολογίας του καρκίνου του πνεύμονα, συμπεριλαμβανομένων των μηχανισμών πολλαπλασιασμού, μετανάστευσης και εισβολής που σχετίζονται με την κακοήθη πνευμονική νόσο.
Organism	Ανθρώπινο
Tissue	Πνεύμονας
Disease	Μη μικροκυτταρικός καρκίνος του πνεύμονα
Metastatic site	Κακοήθης πλευριτική συλλογή (θέση λήψης δείγματος)
Applications	Έρευνα για τον μη μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα (NSCLC)· βιολογία του αδενοσκωαματώδους καρκινώματος του πνεύμονα· μελέτες κέρδους λειτουργίας του TP53 p.Tyr220Cys· απόκριση του ATM σε βλάβες του DNA· ευαισθησία στη χημειοθεραπεία (σισπλατίνη, πακλιταξέλη, γεμσιταβίνη)· καταρτισμός προφίλ ευαισθησίας σε φάρμακα με τις μεθόδους DepMap/CCLE· ανακάλυψη βιοδεικτών· συγκριτική γονιδιωματική του NSCLC· βιολογία της κακοήθους πνευμονικής νόσου
Synonyms	HCC-366, HCC0366, Κέντρο Καρκίνου Hamon 366

Χαρακτηριστικά

Age	80 χρόνια

Κύτταρα HCC366 | 302155

Gender	Γυναίκα
Ethnicity	Ευρωπαϊκό
Morphology	Επιθηλιοειδής
Cell type	Επιθηλιακά κύτταρα
Growth properties	Μονοστρωματική, προσκολλημένη

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation	HCC366 (αριθμός καταλόγου Cytion 302155)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_2059
GMO Status	Χωρίς γενετική τροποποίηση· κυτταρική σειρά NSCLC φυσικού τύπου με ενδογενείς σωματικές μεταλλάξεις (ομόζυγο TP53 p.Tyr220Cys· ετερόζυγο ATM p.Pro534Ala)

Βιομοριακά δεδομένα

MSI-status	MSS
Mutational profile	TP53 p.Tyr220Cys (c.659A>G) ομόζυγο· ATM p.Pro534Ala (c.1600C>G) ετερόζυγο

Χειρισμός

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM σταθερής γλουταμίνης, w: 2,0 g/L NaHCO3 (αριθμός άρθρου Cytion 820700a)
Supplements	Συμπληρώστε το θρεπτικό μέσο με 10% θερμικά αδρανοποιημένο FBS
Dissociation Reagent	Accutase

Κύτταρα HCC366 | 302155

Doubling time	περίπου 60 έως 70 ώρες
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.
Split ratio	1 έως 5
Seeding density	1 έως 3 × 10^4 κύτταρα/cm^2
Fluid renewal	2 έως 3 φορές την εβδομάδα
Post-Thaw Recovery	Μετά την απόψυξη, μεταφέρετε τα κύτταρα σε τρυβλία με πυκνότητα 5 × 10^4 κύτταρα/cm^2 και αφήστε τα να προσκολληθούν για τουλάχιστον 24 ώρες πριν από την πρώτη αλλαγή του θρεπτικού μέσου.
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 HCC366 | 302155

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.

Flask Coating

Κανένα

Freezing Procedure

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 HCC366 | 302155

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.