

HCC44 rakud | 305456

Üldine teave

Description

HCC44 rakuliin on mitteväikerakk-kopsuvähi (NSCLC) mudel, mis on tuntud KRAS-mutatsiooni kandjana; sellel mutatsioonil on oluline roll vähi progresseerumisel ja ravimresistentsuse tekkimisel. Uuringus, milles uuriti KRAS-i poolt põhjustatud NSCLC omadusi, tuvastati, et HCC44 eluvõime sõltub õunhappe ensüümist 1 (ME1), mis viitab sellele, et KRAS-mutatsioon selles rakuliinis suurendab glutamiini ainevahetuses ja redoksitasakaalus osalevate geenide ekspressiooni. ME1 roll NADPH-i tootmisel aitab võidelda oksüdatiivse stressiga, mis on eriti oluline kiiresti paljunevate KRAS-mutatsiooniga vähirakkude jaoks.

Edasised uuringud looduslike ühendite, nagu kromomütsiini analoogide kohta on näidanud potentsiaalset terapeutilist tähtsust HCC44 suhtes. Kromomütsiini SA2 ja sellega seotud molekulide tsütotoksilist mõju HCC44-le hinnati, näidates teiste analoogidega võrreldes vähenenud toimet, mis tuleneb külghelate modifikatsioonidest, mis mõjutavad nende interaktsiooni DNA-ga. Lisaks on uuritud rakuliini reaktsiooni kiiritusravile, mis näitab, et glutamiini ainevahetuse häirimine võib muuta HCC44 kiirgusele tundlikumaks, ületades potentsiaalselt mõned KRAS-mutatsioonidest tingitud kiirgusresistentsuse aspektid.

Organism

Inimene

Tissue

Kopsud

Disease

Adenokartsinoom

Synonyms

HCC-44, HCC0044, Hamoni vähikeskus 44

Omadused

Age

54 aastat

Gender

Naised

Ethnicity

Euroopa

Morphology

Epiteelilaadsed

Growth properties

Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation

HCC44 (Cytioni katalooginumber 305456)

Biosafety level

1

HCC44 rakud | 305456

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_2060

Biomolekulaarsed andmed

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

Töötlemine

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytioni artikli number 820700a)

Supplements Täiendada söötme 10% FBS-ga

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Eemaldage kleepunud rakkudel vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.

Seeding density 1 kuni 3×10^4 rakku/cm²

Fluid renewal 2 kuni 3 korda nädalas

Freeze medium Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

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

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vial kiiresti, kastes selle 37 °C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud vial ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

**Shipping
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Storage
Conditions**

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage vialid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll ja molekulaaranalüüs

HCC44 rakud | 305456

Sterility

Mükoplasmaakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.