

HTh-7 rakud | 305128

Üldine teave

Description

HTh-7 rakuliin on inimese anaplastilise kilpnäärmevähki (ATC) mudel, mida kasutatakse laialdaselt selle pahaloomulise kasvaja agressiivse iseloomu uurimiseks. ATC-le on iseloomulik kiire progresseerumine, resistentsus tavapäraste ravimeetodite suhtes ja halb prognoos. HTh-7 rakkudel esinevad ATC-le iseloomulikud keerukad kromosoomianomaaliad, sealhulgas kromosoomipiirkondade, näiteks kromosoomi 20q, spetsiifilised lisandumised ja kadumised, mis on seotud vähi progresseerumisega. Nendes rakkudes ei esine levinud BRAF V600E mutatsiooni, mis on sagedane papillaarse kilpnäärme kartsinoomi puhul, kuid harvem ATC puhul, mis rõhutab onkogeensete tegurite mitmekesisust erinevates kilpnäärmevähkides.

HTh-7 rakuliini edasine genoomne iseloomustus paljastab sagedasi mutatsioone TERT-promootoris, mis on agressiivsete kilpnäärmevähkide tunnuseks. Rakud näitavad deleetsiooni loodusliku tüübi TERT-koopias, mis viitab homosügootse TERT-promootori mutatsiooni olemasolule, mis tõenäoliselt soodustab nende agressiivset fenotüüpi, edendades telomeraasi aktiveerimist. HTh-7 rakkudel esinevad ka mutatsioonid TP53 geenis, mis viivad p53 funktsiooni täieliku kaotuseni – see on ATC-s levinud nähtus ja genoomse ebastabiilsuse tekitaja. Selle funktsiooni kaotusega kaasnevad sageli teised mutatsioonid, näiteks PTEN-is ja PI3K/AKT/mTOR signaalitees osalevates geenides, mis rõhutab veelgi HTh-7 kasulikkust ATC molekulaarsete aluste uurimise mudelina.

HTh-7 rakud näitavad ka märkimisväärset dediferentseerumist, mida tõendavad madalad kilpnäärme diferentseerumise skoorid (TDS), sarnaselt ATC-tuumorigega. See dediferentseerumine on iseloomulik kaugelarenenud kilpnäärmevähkidele ja kajastub kilpnäärmespetsiifilise geeniekspressiooni olulises kadus, muutes HTh-7 ideaalseks mudeliks kilpnäärmevähi dediferentseerumise mehhanismide ja sellega seotud raviväljakutsete uurimiseks. Rakuliini geneetiline profiil, sealhulgas muutused TP53- ja TERT-geenides, rõhutab selle olulisust prekliinilistes uuringutes, mille eesmärk on uurida uusi ATC ravivõimalusi, eriti neid, mis on suunatud telomeeride säilitamisega seotud signaalradadele ja p53-ga seotud mehhanismidele.

Organism

Inimene

Tissue

Kilpnääre

Disease

Kilpnäärme anaplastiline kartsinoom

Synonyms

Hth7, HTh 7, HTh-7, Uhth-7, U-hth7, U-Hth7

Omadused

Age

74 aastat

Gender

Naised

Morphology

Epiteel

HTh-7 rakud | 305128

Growth properties

Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation HTh-7 (Cytioni katalooginumber 305128)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_6289

Biomolekulaarsed andmed

Töötlemine

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,1 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.

HTh-7 rakud | 305128

**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

HTh-7 rakud | 305128

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.