Product sheet

HCC366 rakud | 302155

Üldine teave

Description	HCC366 on inimese kopsu adenoskvamoosne kartsinoomi rakuliin, mis on saadud 80-aastase Euroopa päritolu naispatsiendi pahaloomulisest pleuraefusioonist Hamoni vähikeskuses (Hamon Cancer Center), mis kuulub UT Southwestern Medical Centerisse. Adenoskvamoosne kartsinoom on haruldane mitteväikerakk-kopsuvähi (NSCLC) segahistoloogiline alatüüp, milles ühinevad nii adenokartsinoomi kui ka skvamooksrakulise kartsinoomi tunnused. HCC366 kuulub Cancer Dependency Map (DepMap), CCLE, COSMIC rakuliinide ja MD Anderson Cell Lines Projecti paneelidesse. Sellel liinil esineb homosügootne TP53 p.Tyr220Cys-mutatsioon (DNA-sidumisdomeeni struktuuriline mutatsioon) ja heterosügootne ATM p.Pro534Ala-mutatsioon. Sellel puuduvad KRAS-, EGFR- või STK11-juhtmutatsioonid ning see on mikrosatelliitide poolest stabiilne (MSS). Rakude kahekordistumisaeg on umbes 60–70 tundi. HCC366 sobib kasutamiseks mitteväikerakk-kopsuvähi (NSCLC) uurimisel, eriti kopsu adenoskvamoosse kartsinoomi bioloogia uuringutes, mida on võrreldes puhta adenokartsinoomi või skvamoolse kartsinoomi alatüüpidega seni vähe uuritud. Peamised rakendused hõlmavad: TP53 funktsiooni võimendava mutatsiooni uuringud; ATM-vahendatud DNA-kahjustusele reageerimine; kemoteraapia tundlikkuse ja resistentsuse testimine (tsisplatiin, paklitakseel, gemtsitabiin); sihtravimite hindamine; ravimitundlikkuse profiilide koostamine DepMap- ja CCLE-raamistike raames; biomarkerite avastamine segahistoloogilise NSCLC puhul; võrdlev genoomika; ning proteoomilised/transkriptoomilised profiilid. HCC366 on aidanud kaasa ka kopsuvähi rakubioloogia uuringutele, sealhulgas pahaloomulise pleurahaigusega seotud proliferatsiooni, migratsiooni ja invasiivsuse mehhanismide uurimisele.
Organism	Inimene
Tissue	Kopsud
Disease	Mitteväikerakk-kopsuvähk
Metastatic site	Pahaloomuline pleuraefusioon (proovi võtmise koht)
Applications	NSCLC-uuringud; kopsu adenoskvamoosse kartsinoomi bioloogia; TP53 p.Tyr220Cys funktsiooni tugevnemise uuringud; ATM-i DNA-kahjustusele reageerimine; kemoteraapia tundlikkus (tsisplatiin, paklitakseel, gemtsitabiin); DepMap/CCLE ravimite tundlikkuse profiilide koostamine; biomarkerite avastamine; NSCLC võrdlev genoomika; pahaloomulise pleurahaiguse bioloogia
Synonyms	HCC-366, HCC0366, Hamon Cancer Center 366

Omadused

Age	80 aastat
Gender	Naised

HCC366 rakud | 302155

Ethnicity	Euroopa
Morphology	Epiteelilaadsed
Cell type	Epiteelirakud
Growth properties	Monokihiline, kleepuv

Regulatiivsed andmed

Citation	HCC366 (Cytioni kataloginumber 302155)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_2059
GMO Status	Geneetiliselt muundamata; looduslik tüüpi NSCLC rakuliin, millel esinevad endogeensed somaatilised mutatsioonid (TP53 p.Tyr220Cys homosügootne; ATM p.Pro534Ala heterosügootne)

Biomolekulaarsed andmed

MSI-status	MSS
Mutational profile	TP53 p.Tyr220Cys (c.659A>G) homosügootne; ATM p.Pro534Ala (c.1600C>G) heterosügootne

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% soojusinaktiveeritud FBS-iga
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	umbes 60–70 tundi

HCC366 rakud | 302155

Subculturing	Eemaldage kleepunud rakkudelt 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.
Split ratio	1–5
Seeding density	1–3 × 10^4 rakku/cm^2
Fluid renewal	2 kuni 3 korda nädalas
Post-Thaw Recovery	Pärast sulatamist külvake rakud tihedusega 5 × 10^4 rakku/cm^2 ja laske neil enne esimest kasvukeskkonna vahetust vähemalt 24 tundi kinnituda.
Freeze medium	Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni kataloginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

HCC366 rakud | 302155

Thawing and Culturing Cells	1. Veenduge, et viaal 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 viaali 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 viaali 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. Adhereeruvate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötmekeskkond 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% $_{CO2}$, niisutatud atmosfäär.
Flask Coating	Puudub
Freezing Procedure	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 viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.
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 viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Storage Conditions	Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid 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

Sterility	Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminestsentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil. Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.