

HCC44-solut | 305456

Yleisiä tietoja

Description

HCC44-solulinja on ei-pienisoluinen keuhkosyöpä (NSCLC) -malli, joka tunnetaan KRAS-mutaatioistaan, joilla on merkittävä rooli syövän etenemisessä ja hoidon vastustuskyvyssä. Tutkimuksessa, jossa selvitettiin KRAS-välitteisen NSCLC:n ominaisuuksia, havaittiin, että HCC44:n elinkelpoisuus riippuu maliini-entsyymistä 1 (ME1), mikä viittaa siihen, että tämän solulinjan KRAS-mutaatio tehostaa glutamiinimetaboliaan ja redox-tasapainoon liittyvien geenien ilmentymistä. ME1:n rooli NADPH:n tuottamisessa auttaa torjumaan oksidatiivista stressiä, mikä on erityisen tärkeää nopeasti lisääntyville KRAS-mutanttille syöpäsoluille.

Lisätutkimukset kromomysiinin analogien kaltaisista luonnollisista yhdisteistä ovat osoittaneet potentiaalisen terapeuttisen merkityksen HCC44:n hoidossa. Kromomysiini SA2:n ja siihen liittyvien molekyylien sytotoksisia vaikutuksia HCC44:ään arvioitiin, ja niiden teho osoittautui heikommaksi verrattuna muihin analogeihin sivuketjujen modifikaatioiden vuoksi, jotka vaikuttavat niiden vuorovaikutukseen DNA:n kanssa. Lisäksi on tutkittu solulinjan vastetta sädehoitoon, ja tulokset viittaavat siihen, että glutamiinimetabolian häiritseminen voisi herkistää HCC44:n säteilylle, mikä voisi mahdollisesti kumota joitakin KRAS-mutaatioiden aiheuttamia säteilykestävyyden piirteitä.

Organism

Ihminen

Tissue

Keuhkot

Disease

Adenokarsinooma

Synonyms

HCC-44, HCC0044, Hamonin syöpäkeskus 44

Ominaisuudet

Age

54 vuotta

Gender

Nainen

Ethnicity

Eurooppalainen

Morphology

Epiteelin kaltainen

Growth properties

Tarttuva

Säätelytiedot

Citation

HCC44 (Cytion-tuotenumero 305456)

HCC44-solut | 305456

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_2060

Biomolekyylitiedot

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

Käsittely

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilia glutamiinia, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytionin artikkelinumero 820700a)**Supplements** Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreeseen väliaineeseen ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.**Seeding density** 1–3 x 10⁴ solua/cm²**Fluid renewal** 2-3 kertaa viikossa**Freeze medium** Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

HCC44-solut | 305456

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

**Shipping
Conditions**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

**Storage
Conditions**

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi

HCC44-solut | 305456

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.