

HCC70-solut | 305464

Yleisiä tietoja

Description

HCC70-solulinja on peräisin kolmoisnegatiivisesta rintasyövästä (TNBC), joka on alatyyppejä, josta puuttuu estrogeeni-, progesteroni- ja HER2-reseptoreiden ilmentyminen, mikä tekee siitä vaikeasti hoidettavan, koska kohdennettuja hoitoja on rajoitetusti. HCC70-solujen erityispiirteenä on niiden basal-like 1 (BL1) -luokitus TNBC-alatyypeissä, mikä vaikuttaa niiden vasteeseen kemoterapialle ja hoitostrategioille. Tärkeää on, että HCC70-solut ilmentävät G-proteiinikytkentäistä estrogeenireseptoria GPR30:tä merkittävässä määrin. GPR30 on yhdistetty nopeisiin signaalivasteisiin estrogeeneille, kuten 17β-estradiolille, ja se vaikuttaa solujen proliferaatioon ja muihin onkogeeneihin reitteihin.

HCC70:n keskeinen geneettinen ominaisuus on TP53-mutaatio, erityisesti R248Q-muunnos. Tämä mutaatio liittyy GOF-fenotyypeihin (gain-of-function), jotka edistävät syöpäsolujen selviytymistä ja aggressiivista käyttäytymistä. Tutkimuksissa HCC70-solujen R248Q-mutaatio on yhdistetty solujen lisääntyneeseen epämuodostuvuuteen ja muuttuneeseen PARP1:n lokalisaatioon, mikä viittaa mahdolliseen herkyyteen PARP:n estäjille.

HCC70:n ja vastaavien TNBC-solulinjojen lääkevasteiden tutkimuksessa on korostettu proteasomin estäjien ja platinapohjaisten hoitojen tehoa. Nämä hoidot ovat osoittautuneet lupaaviksi, ja bortetsomibin kaltaisilla lääkkeillä on ollut sytotoksisia vaikutuksia. Kemoterapeuttisen resistenssin ja reseptorisignaalin, kuten GPR30:n välittämän reseptorisignaalin, välinen vuorovaikutus korostaa HCC70:n kaltaisten TNBC-alatyyppeiden kohdentamisen monimutkaisuutta.

Organism

Ihminen

Tissue

Rintarauhanen

Disease

Rinnan duktaalinen karsinooma

Synonyms

HCC-70, HCC 70, HCC0070, Hamonin syöpäkeskus 70

Ominaisuudet

Age

49 vuotta

Gender

Nainen

Ethnicity

Afroamerikkalainen

Morphology

Epiteelin kaltainen

Cell type

Epiteelisolu

HCC70-solut | 305464

Growth properties

Tarttuva

Säätelytiedot

Citation HCC70 (Cytionin luettelonumero 305464)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1270

Biomolekyylitiedot

Protein expression Epiteeliglykoproteiini 2 (EGP2), sytokeratiini 19**Oncogenes** Her2/neu-, p53+ (ylikspressoitunut)

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 väliainetta.

Fluid renewal 2-3 kertaa viikossa

HCC70-solut | 305464**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.

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetytynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, 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 jäätä 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.

Flask Coating

Ei mitään

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä 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.

HCC70-solut | 305464

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädssä 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

Sterility

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

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