

HTh-7-solut | 305128

Yleisiä tietoja

Description

HTh-7-solulinja on ihmisen anaplastisen kilpirauhassyövän (ATC) malli, jota käytetään laajalti tämän pahanlaatuisen kasvaimen aggressiivisuuden tutkimiseen. ATC:lle on ominaista nopea eteneminen, vastustuskyky tavanomaisille hoitomuodoille ja huono ennuste. HTh-7-soluissa esiintyy ATC:lle tyypillisiä monimutkaisia kromosomipoikkeavuuksia, mukaan lukien tiettyjen kromosomialueiden, kuten kromosomin 20q, spesifiset lisäykset ja menetykset, jotka liittyvät syövän etenemiseen. Näissä soluissa ei esiinny yleistä BRAF V600E -mutaatioita, joka on yleinen papillaarisessa kilpirauhassyövässä mutta harvinaisempi ATC:ssä, mikä korostaa eri kilpirauhassyöpien syöpää aiheuttavien tekijöiden monimuotoisuutta.

HTh-7-solulinjan genomin tarkempi karakterisointi paljastaa usein esiintyviä mutaatioita TERT-promootorissa, mikä on aggressiivisten kilpirauhassyöpien tunnusmerkki. Soluissa esiintyy deleetio villityypin TERT-kopiossa, mikä viittaa homotsygoottisen TERT-promootorimutaation läsnäoloon, joka todennäköisesti edistää niiden aggressiivista fenotyyppiä edistämällä telomeraasin aktivaatiota. HTh-7-soluissa on myös mutaatioita TP53-geenissä, mikä johtaa p53-funktion täydelliseen menetykseen, mikä on yleistä ATC:ssä ja genomin epävakauden aiheuttaja. Tämä funktion menetys liittyy usein muihin mutaatioihin, kuten PTEN-geenissä ja PI3K/AKT/mTOR-reitin geeneissä, mikä korostaa entisestään HTh-7:n hyödyllisyyttä mallina ATC:n molekyyylitason mekanismien tutkimuksessa.

HTh-7-solut osoittavat myös merkittävää dedifferentoitumista, mikä näkyy alhaisina kilpirauhasen erilaistumispisteinä (TDS), jotka ovat samanlaisia kuin ATC-kasvaimissa. Tämä dedifferentoituminen on tyypillistä pitkälle edenneille kilpirauhassyöville ja näkyy kilpirauhaskohtaisen geeniekspression merkittävänä menetyksenä, mikä tekee HTh-7:stä ihanteellisen mallin kilpirauhassyövän dedifferentoitumisen mekanismien ja siihen liittyvien terapeuttisten haasteiden tutkimiseen. Solulinjan geneettinen profiili, mukaan lukien muutokset TP53- ja TERT-geeneissä, korostaa sen merkitystä prekliinisissä tutkimuksissa, joiden tavoitteena on tutkia uusia terapeuttisia lähestymistapoja ATC:n hoitoon, erityisesti niitä, jotka kohdistuvat telomeerien ylläpitoon ja p53-mekanismeihin.

Organism

Ihminen

Tissue

Kilpirauhanen

Disease

Kilpirauhasen anaplastinen karsinooma

Synonyms

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

Ominaisuudet

Age

74 vuotta

Gender

Nainen

Morphology

Epiteeli

HTh-7-solut | 305128

Growth properties

Tarttuva

Säätelytiedot

Citation HTh-7 (Cytion-tuotenumero 305128)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_6289

Biomolekyyli tiedot

Käsittely

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,1 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.

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.

HTh-7-solut | 305128

**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

HTh-7-solut | 305128

Sterility

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

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