

HCC44 sejtek | 305456

Általános információk

Description

A HCC44 sejtvonal egy nem kissejtes tüdőrák (NSCLC) modell, amelyről ismert, hogy KRAS-mutációt hordoz, amely jelentős szerepet játszik a rák progressziójában és a kezeléssel szembeni rezisztenciában. A KRAS-vezérelt NSCLC jellemzőit vizsgáló tanulmányban megállapították, hogy a HCC44 életképessége a malát-enzim 1-től (ME1) függ, ami arra utal, hogy a KRAS-mutáció ebben a sejtvonalban fokozza a glutamin-anyagcserében és a redox-egyensúlyban részt vevő gének expresszióját. Az ME1 szerepe a NADPH termelésében segít az oxidatív stressz ellensúlyozásában, ami különösen fontos a gyorsan szaporodó KRAS-mutáns ráksejtek számára.

A kromomicin-analógokhoz hasonló természetes vegyületek további kutatása kimutatta a HCC44-re gyakorolt potenciális terápiás jelentőségüket. A kromomicin SA2-t és a kapcsolódó molekulákat a HCC44-re gyakorolt citotoxikus hatásai szempontjából értékelték, és kiderült, hogy a DNS-sel való kölcsönhatásukat befolyásoló oldallánc-módosulások miatt hatékonyságuk alacsonyabb, mint más analógoké. Ezenkívül tanulmányozták a sejtvonal sugárterápiára adott válaszát, ami arra utal, hogy a glutamin-anyagcsere zavarása érzékenyebbé teheti a HCC44-et a sugárzásra, potenciálisan leküzdve a KRAS-mutációk által okozott sugárrezisztencia bizonyos aspektusait.

Organism

Emberi

Tissue

Tüdő

Disease

Adenokarcinóma

Synonyms

HCC-44, HCC0044, Hamon Rákközpont 44

Jellemzők

Age

54 év

Gender

Női

Ethnicity

Európai

Morphology

Epithelszerű

Growth properties

Adherent

Szabályozási adatok

Citation

HCC44 (Cytion katalógusszám: 305456)

HCC44 sejtek | 305456

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_2060

Biomolekuláris adatok

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

A kezelése

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabil glutamin, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion 820700a cikkszám)

Supplements A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadéokban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.

Seeding density $1-3 \times 10^4$ sejt/cm²

Fluid renewal hetente 2-3 alkalommal

Freeze medium Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kioltás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

HCC44 sejtek | 305456

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150°C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37°C -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a krioürlékét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , párasított légkör.

**Shipping
Conditions**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78°C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

**Storage
Conditions**

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150°C és -196°C közötti hőmérsékleten. A -80°C -on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés és molekuláris elemzés

HCC44 sejtek | 305456

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.