

Cellule HCC44 | 305456

Informazioni generali

Description

La linea cellulare HCC44 è un modello di carcinoma polmonare non a piccole cellule (NSCLC) noto per presentare una mutazione del gene KRAS, che svolge un ruolo significativo nella progressione del tumore e nella resistenza al trattamento. In uno studio volto ad esplorare le caratteristiche del NSCLC guidato da KRAS, è stato identificato che la linea cellulare HCC44 dipende dall'enzima malico 1 (ME1) per la propria vitalità, suggerendo che la mutazione KRAS in questa linea cellulare potenzia l'espressione dei geni coinvolti nel metabolismo della glutammina e nell'equilibrio redox. Il ruolo dell'ME1 nella generazione di NADPH contribuisce a contrastare lo stress ossidativo, il che è particolarmente vitale per le cellule tumorali con mutazione KRAS soggette a rapida proliferazione.

Ulteriori ricerche su composti naturali come gli analoghi della cromomicina hanno mostrato una potenziale rilevanza terapeutica per HCC44. La cromomicina SA2 e molecole correlate sono state valutate per i loro effetti citotossici su HCC44, mostrando una potenza ridotta rispetto ad altri analoghi a causa di modifiche nelle catene laterali che influenzano la loro interazione con il DNA. Inoltre, è stata studiata la risposta della linea cellulare alla radioterapia, indicando che la perturbazione del metabolismo della glutammina potrebbe sensibilizzare l'HCC44 alle radiazioni, superando potenzialmente alcuni aspetti della radioresistenza conferita dalle mutazioni del KRAS.

Organism

Umano

Tissue

Polmone

Disease

Adenocarcinoma

Synonyms

HCC-44, HCC0044, Hamon Cancer Center 44

Caratteristiche

Age

54 anni

Gender

Donna

Ethnicity

Europeo

Morphology

Simile all'epitelio

Growth properties

Aderente

Dati normativi

Cellule HCC44 | 305456

Citation	HCC44 (codice catalogo Cytion 305456)
-----------------	---------------------------------------

Biosafety level	1
------------------------	---

NCBI_TaxID	9606
-------------------	------

CellosaurusAccession	CVCL_2060
-----------------------------	-----------

Dati biomolecolari

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

Manipolazione

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM di glutammina stabile, w: 2,0 g/L di NaHCO ₃ (articolo Cytion numero 820700a)
-----------------------	---

Supplements	Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS
--------------------	---

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

Subculturing	Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.
---------------------	---

Seeding density	Da 1 a 3×10^4 cellule/cm ²
------------------------	--

Fluid renewal	da 2 a 3 volte alla settimana
----------------------	-------------------------------

Freeze medium	Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongellamento, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.
----------------------	--

Cellule HCC44 | 305456

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosfera umidificata.

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo qualità e analisi molecolare

Cellule HCC44 | 305456

Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.