

HCC44 ląstelės | 305456

Bendra informacija

Description	HCC44 ląstelių linija yra nedidelio ląstelių plaučių vėžio (NSCLC) modelis, žinomas dėl jame esančios KRAS mutacijos, kuri atlieka svarbų vaidmenį vėžio progresavime ir atsparume gydymui. Tyrime, kuriame buvo tiriamos KRAS sukeltos NSCLC savybės, nustatyta, kad HCC44 gyvybingumas priklauso nuo obuolių fermento 1 (ME1), o tai rodo, kad KRAS mutacija šioje ląstelių linijoje sustiprina genų, dalyvaujančių glutamino metabolizme ir redokso pusiausvyroje, ekspresiją. ME1 vaidmuo NADPH gamybai padeda kovoti su oksidaciniu stresu, kuris yra ypač svarbus greitai besidauginančioms KRAS mutaciją turinčioms vėžio ląstelėms. Tolimesni tyrimai su natūraliais junginiais, tokiais kaip chromomicino analogai, parodė potencialią terapinę reikšmę HCC44 atžvilgiu. Chromomicinas SA2 ir susijusios molekulės buvo įvertintos dėl jų citotoksinio poveikio HCC44, parodant sumažėjusį stiprumą, palyginti su kitais analogais, dėl šoninių grandinių modifikacijų, kurios veikia jų sąveiką su DNR. Be to, buvo tiriama ląstelių linijos atsakas į spindulinę terapiją, o tai rodo, kad sutrikdžius glutamino metabolizmą, HCC44 gali tapti jautresnės spinduliams, o tai galėtų padėti įveikti kai kuriuos KRAS mutacijų sukeliamus spindulinio atsparumo aspektus.
Organism	Žmogus
Tissue	Plaučiai
Disease	Adenokarcinoma
Synonyms	HCC-44, HCC0044, Hamono vėžio centras 44

Charakteristikos

Age	54 metai
Gender	Moteris
Ethnicity	Europos
Morphology	Epitelį panašus
Growth properties	Prigludęs

Reguliavimo duomenys

Citation	HCC44 (Cytion katalogo numeris 305456)
Biosafety level	1

HCC44 ląstelės | 305456

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_2060

Biomolekuliniai duomenys

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

Tvarkymas

Culture Medium RPMI 1640, š: 2,0 mM stabilus glutaminas, š: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion gaminio numeris 820700a)

Supplements Papildykite terpę 10 % FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkeltkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.

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

Fluid renewal 2-3 kartus per savaitę

Freeze medium Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

HCC44 ląstelės | 305456**Thawing and
Culturing Cells**

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švriu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

**Shipping
Conditions**

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

**Storage
Conditions**

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150 - 196°C temperatūroje. Laikymas -80°C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkelti į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė ir molekulinė analizė

HCC44 ląstelės | 305456

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.