

HTh-7 ląstelės | 305128

Bendra informacija

Description

HTh-7 ląstelių linija yra žmogaus anaplastinės skydliaukės karcinomos (ATC) modelis, plačiai naudojamas šios piktybinės ligos agresyvumo tyrimams. ATC būdinga greita progresija, atsparumas tradiciniams gydymo metodams ir bloga prognozė. HTh-7 ląstelėse pasireiškia sudėtingos chromosomų anomalijos, būdingos ATC, įskaitant specifinius chromosomų regionų, pvz., chromosomos 20q, padidėjimus ir praradimus, kurie yra susiję su vėžio progresavimu. Šiose ląstelėse nėra paprastos BRAF V600E mutacijos, kuri dažnai pasitaiko papiliniame skydliaukės karcinome, bet rečiau – ATC, o tai pabrėžia onkogeninių veiksnių įvairovę skirtinguose skydliaukės vėžio tipuose.

Tolesnis HTh-7 ląstelių linijos genomis apibūdinimas atskleidžia dažnas mutacijas TERT promotoriuje, būdingas agresyviems skydliaukės vėžiams. Ląstelėse pastebimas natūralaus tipo TERT kopijos delecija, o tai rodo homozigotinės TERT promotoriaus mutacijos buvimą, kuri, tikėtina, prisideda prie jų agresyvaus fenotipo, skatindama telomerazės aktyvaciją. HTh-7 ląstelės taip pat turi TP53 geno mutacijas, dėl kurių visiškai prarandama p53 funkcija – tai dažnas reiškinys ATC ir genomio nestabilumo veiksnys. Šis funkcijos praradimas dažnai siejamas su kitomis mutacijomis, pvz., PTEN ir genuose, dalyvaujančiuose PI3K/AKT/mTOR signalo perdavimo kelyje, o tai dar labiau pabrėžia HTh-7 naudą kaip modelio ATC molekulinėms prielaidoms tirti.

HTh-7 ląstelės taip pat rodo žymią dediferenciaciją, kurią patvirtina žemi skydliaukės diferenciacijos balai (TDS), panašūs į ATC navikų. Ši dediferenciacija yra būdinga pažengusiems skydliaukės vėžiams ir atspindi giliame skydliaukės specifinių genų ekspresijos praradime, todėl HTh-7 yra idealus modelis skydliaukės vėžio dediferenciacijos mechanizms ir susijusiems terapiniams iššūkiams tirti. Šios ląstelių linijos genetinis profilis, įskaitant TP53 ir TERT genų mutacijas, pabrėžia jos svarbą ikiklinikiniams tyrimams, kuriais siekiama iširti naujus ATC gydymo metodus, ypač tuos, kurie nukreipti į telomerų palaikymo ir su p53 susijusių mechanizmų kelius.

Organism Žmogus**Tissue** Skydliaukė**Disease** Skydliaukės anaplastinė karcinoma**Synonyms** Hth7, HTh 7, HTh-7, Uhth-7, U-hth7, U-Hth7

Charakteristikos

Age 74 metai**Gender** Moteris**Morphology** Epitelis**Growth properties** Prigludęs

HTh-7 ląstelės | 305128

Reguliavimo duomenys

Citation	HTh-7 (Cytion katalogo numeris 305128)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_6289

Biomolekuliniai duomenys

Tvarkymas

Culture Medium	RPMI 1640, š: 2,1 mM stabilus glutaminas, š: 2,0 g/L NaHCO ₃ (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 perkelti jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.
Seeding density	$1-3 \times 10^4$ ląstelės/cm ²
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.

HTh-7 ląstelės | 305128**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 švariu 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

HTH-7 ląstelės | 305128

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.