

HCC44 šūnas | 305456

Vispārīga informācija

Description

HCC44 šūnu līnija ir nesikšūnu plaušu vēža (NSCLC) modelis, kas pazīstams ar KRAS mutāciju, kurai ir nozīmīga loma vēža progresēšanā un rezistences veidošanā pret ārstēšanu. Pētījumā, kurā tika izpētītas KRAS izraisīta NSCLC īpašības, tika konstatēts, ka HCC44 dzīvotspēja ir atkarīga no malīnskābes fermenta 1 (ME1), kas liecina, ka KRAS mutācija šajā šūnu līnijā pastiprina to gēnu ekspresiju, kas ir iesaistīta glutamīna metabolismā un redoks līdzsvarā. ME1 loma NADPH veidošanā palīdz cīnīties pret oksidatīvo stresu, kas ir īpaši svarīgi KRAS mutāciju nesējošām vēža šūnām, kuras strauji vairojas.

Turpmākie pētījumi par dabīgiem savienojumiem, piemēram, hromomicīna analogiem, ir parādījuši potenciālu terapeitisko nozīmi attiecībā uz HCC44. Hromomicīns SA2 un saistītās molekulas tika novērtētas pēc to citotoksiskās iedarbības uz HCC44, parādot samazinātu iedarbību salīdzinājumā ar citiem analogiem sakarā ar sānu ķēžu modifikācijām, kas ietekmē to mijiedarbību ar DNS. Turklāt tika pētīta šīs šūnu līnijas reakcija uz staru terapiju, kas liecināja, ka glutamīna metabolisma traucējumi varētu padarīt HCC44 jutīgāku pret starojumu, potenciāli pārvarot dažus KRAS mutāciju izraisītos staru rezistences aspektus.

Organism

Cilvēks

Tissue

Plaušas

Disease

Adenokarcinoma

Synonyms

HCC-44, HCC0044, Hamona Vēža centrs 44

Raksturojums

Age

54 gadi

Gender

Sievietes

Ethnicity

Eiropas

Morphology

Epitēlijveidīgs

Growth properties

Adherent

Normatīvie dati

Citation

HCC44 (Cytion kataloga numurs 305456)

Biosafety level

1

HCC44 šūnas | 305456

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_2060

Biomolekulārie dati

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

Darbs ar

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820700a)

Supplements Papildināt barotni ar 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiēt šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.

Seeding density 1 līdz 3×10^4 šūnas/cm²

Fluid renewal 2 līdz 3 reizes nedēļā

Freeze medium Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

HCC44 šūnas | 305456

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

**Shipping
Conditions**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

**Storage
Conditions**

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole un molekulārā analīze

HCC44 šūnas | 305456

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.