

HCC70 šūnas | 305464

Vispārīga informācija

Description

HCC70 šūnu līnija ir iegūta no trīskārši negatīva krūts vēža (TNBC) - apakštipa, kurā nav estrogēna, progesterona un HER2 receptoru ekspresijas, tāpēc to ir grūti ārstēt ierobežotu mērķterapiju dēļ. HCC70 šūnas izceļas ar to, ka TNBC apakštipu ietvaros tās klasificētas kā 1. bāzes tipa (BL1) šūnas, kas ietekmē to reakciju uz ķīmijterapiju un ārstēšanas stratēģijām. Svarīgi ir tas, ka HCC70 šūnās ir ievērojams G-proteīna saistītā estrogēna receptora GPR30 ekspresijas līmenis. GPR30 ir saistīts ar ātru signālu reakciju uz estrogēniem, piemēram, 17β-estradiolu, kas ietekmē šūnu proliferāciju un citus onkogēnus.

Galvenā HCC70 ģenētiskā pazīme ir TP53 mutācija, jo īpaši R248Q variants. Šī mutācija ir saistīta ar funkciju ieguvuma (GOF) fenotipiem, kas veicina vēža šūnu izdzīvošanu un agresīvu uzvedību. Pētījumos R248Q mutācija HCC70 šūnās ir saistīta ar paaugstinātu šūnu deformējamību un izmainītu PARP1 lokalizāciju, kas nozīmē potenciālu jutību pret PARP inhibitoriem.

Pētījumos par HCC70 un līdzīgu TNBC šūnu līniju reakciju uz zālēm ir uzsvērtā proteazomu inhibitoru un uz platīnu balstītu terapiju efektivitāte. Šie ārstēšanas veidi ir daudzsoļi, un tādas zāles kā bortezomīds uzrāda citotoksisku iedarbību. Savstarpējā mijiedarbība starp ķīmijterapijas rezistenci un specifisku receptoru signalizāciju, piemēram, GPR30 starpniecību, uzsver, cik sarežģīti ir iedarboties uz tādiem TNBC apakštipiem kā HCC70.

Organism

Cilvēks

Tissue

Krūts dziedzeris

Disease

Krūts duktālā karcinoma

Synonyms

HCC-70, HCC 70, HCC0070, Hamona vēža centrs 70

Raksturojums

Age

49 gadi

Gender

Sievietes

Ethnicity

Afroamerikānis

Morphology

Epitēlijevīdīgs

Cell type

Epitēlija šūna

Growth properties

Adherent

HCC70 šūnas | 305464

Normatīvie dati

Citation	HCC70 (Cytion kataloga numurs 305464)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1270

Biomolekulārie dati

Protein expression	Epitēlija glikoproteīns 2 (EGP2), citokeratīns 19
--------------------	---

Oncogenes Her2/neu-, p53+ (pārmērīga ekspresija)

Darbs ar

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820700a)
----------------	--

Supplements Papildināt barotni ar 10% FBS

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

Subculturing Noņemt veco barotni no pielīpušajām 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.

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.

HCC70 šūnas | 305464

**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.**Flask Coating**

Neviens

**Freezing
Procedure**

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.

HCC70 šūnas | 305464

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 starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole un molekulārā analīze

Sterility

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

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