

MHCC-97H-Luc šūnas | 305687

Vispārīga informācija

Description

MHCC-97H-Luc ir cilvēka MHCC-97H hepatocelulārās karcinomas šūnu līnijas bioluminiscējošs atvasinājums, kas ģenētiski modificēts, lai stabili ekspresētu ugunskrēsliņa luciferāzes reportergēnu. Sākotnējā MHCC-97H šūnu līnija tika izveidota no 39 gadus veca ķīniešu vīrieša hepatocelulārās karcinomas un tai raksturīgs augsts metastāzēšanas potenciāls, ko atspoguļo tās klasifikācija kā MHCC97 sērijas augstas metastāzēšanas apakšlīnija. MHCC-97H šūnas ir saistītas ar B hepatīta vīrusa (HBV) transformāciju un izrāda agresīvu invazīvu uzvedību, tādējādi padarot tās par klīniski nozīmīgu modeli, lai pētītu augsti metastātisku hepatocelulāro karcinomu un terapeitiskās stratēģijas, kas vērstas pret invāziju un izplatīšanos.

Stabila luciferāzes integrācija MHCC-97H-Luc šūnās ļauj veikt jutīgu, neinvazīvu bioluminiscences attēlveidošanu (BLI), novērtējot audzēja apjomu ortotopiskās aknu implantācijas un subkutāno ksenotransplantātu modeļos, izmantojot imūnsistēmas vājinātus saņēmējus. Izstarotais signāls korelē ar dzīvotspējīgo audzēja šūnu skaitu, kas ļauj ilgtermiņā novērot audzēja iesaņķošanu, izplatīšanos aknās un attālās metastāzes. MHCC-97H-Luc ir īpaši vērtīgs in vivo novērtējumam pretmetastātiskajiem līdzekļiem, kināžu inhibitoriem un jaunām mērķtiecīgām terapijām pret ļoti invazīvu hepatocelulāro karcinomu, kā arī audzēja mikrovides mijiedarbības un HCC metastāžu pamatā esošo molekulāro mehānismu izpētei.

MHCC-97H-Luc saglabā augsto metastāzēšanas potenciālu un ar HBV saistītās molekulārās īpašības, kas raksturīgas sākotnējai MHCC-97H līnijai, nodrošinot atbilstošu un agresīvu pirmsklīnisko platformu aknu šūnu karcinomas pētījumiem. Luciferāzes reportera gēns uzlabo eksperimenta jutību un ļauj veikt farmakodinamisko novērtējumu reālajā laikā. Pētniekiem pirms plaša mēroga in vivo izmantošanas ir jāpārbauda luciferāzes aktivitāte, metastāzēšanas īpašības un augšanas kinētika savos konkrētajos eksperimentālajos apstākļos.

Organism

Cilvēks

Tissue

Aknas

Disease

Pieaugušo hepatocelulārā karcinoma

Synonyms

MHCC 97-H, MHCC97-H, MHCC97H

Raksturojums

Age

39 gadi

Gender

Vīrieši

Ethnicity

Ķīniešu

Morphology

Epitēlijevīdīgs

Cell type

Hepatocītu līdzīgs

MHCC-97H-Luc šūnas | 305687

Growth properties

Adherent

Normatīvie dati

Citation MHCC-97H-Luc (Cytion kataloga numurs 305687)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_4972

Biomolekulārie dati

Antigen expression Luc2 (spožā muša, kodonu optimizēts)**Tumorigenic** Augsts metastāzes potenciāls**Viruses** Transformants: B hepatīta vīruss (HBV)

Darbs ar

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/l glikozes, w: 4 mM L-glutamīna, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM nātrija piruvāta**Supplements** Papildināt barotni ar 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase

Subculturing Noņem 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.

Split ratio no 1 līdz 3

MHCC-97H-Luc šūnas | 305687**Seeding density** 2–4 × 10⁴/cm²**Fluid renewal** 2 līdz 3 reizes nedēļā**Freeze medium** Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni + 10% DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas.**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 pārnēsiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Maisījumu centrifugē pie 200 x g 5 minūtes, virsgatavumu, kas satur sasaldēšanas barotni, uzmanīgi izmet.
7. Veikt procedūru, kas aprakstīta sadaļā "Atjaunošana pēc atkausēšanas"

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, 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 starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

MHCC-97H-Luc šūnas | 305687

Kvalitātes kontrole un molekulārā analīze