

HTh-7 šūnas | 305128

Vispārīga informācija

Description

HTh-7 šūnu līnija ir cilvēka anaplastiskā vairogdziedzera karcinoma (ATC) modelis, ko plaši izmanto, lai pētītu šī ļaundabīgā audzēja agresīvo raksturu. ATC raksturīga strauja progresēšana, rezistence pret tradicionālajām terapijām un nelabvēlīga prognoze. HTh-7 šūnas uzrāda sarežģītas hromosomu anomālijas, kas ir tipiskas ATC, tostarp specifiskus hromosomu reģionu, piemēram, hromosomas 20q, pieaugumus un zudumus, kas ir saistīti ar vēža progresēšanu. Šīs šūnas nesatur izplatīto BRAF V600E mutāciju, kas bieži sastopama papildrajā vairogdziedzera karcinomā, bet retāk ATC, kas uzsver onkogēno faktoru daudzveidību dažādos vairogdziedzera vēža veidos.

HTh-7 šūnu līnijas turpmāka genomiskā raksturošana atklāj biežas mutācijas TERT promotorā, kas ir agresīvu vairogdziedzera vēžu pazīme. Šūnas uzrāda deleciju savvaļas tipa TERT kopijā, liecinot par homozigotas TERT promotora mutācijas klātbūtni, kas, visticamāk, veicina to agresīvo fenotipu, sekmējot telomerāzes aktivāciju. HTh-7 šūnas nes arī mutācijas TP53 gēnā, kas izraisa p53 funkcijas pilnīgu zudumu — bieži sastopamu parādību ATC un genomiskās nestabilitātes cēloni. Šīs funkcijas zudums bieži ir saistīts ar citām mutācijām, piemēram, PTEN un gēnos, kas iesaistīti PI3K/AKT/mTOR ceļā, vēl vairāk uzsverot HTh-7 lietderību kā modeli ATC molekulāro pamatu izpētei.

HTh-7 šūnas demonstrē arī ievērojamu dediferentāciju, ko apliecina zems vairogdziedzera diferenciācijas rādītājs (TDS), kas ir līdzīgs ATC audzējiem. Šī dediferentācija ir raksturīga progresējušiem vairogdziedzera vēžiem un atspoguļo vairogdziedzera specifisko gēnu ekspresijas ievērojamā zudumā, padarot HTh-7 par ideālu modeli vairogdziedzera vēža dediferentācijas mehānismu un ar to saistīto terapeitisko izaicinājumu izpētei. Šīs šūnu līnijas ģenētiskais profils, ieskaitot izmaiņas TP53 un TERT gēnos, uzsver tās nozīmi pirmsklīniskajos pētījumos, kuru mērķis ir izpētīt jaunus ATC ārstēšanas pieejas, jo īpaši tās, kas vērstas uz telomēru uzturēšanā iesaistītajiem ceļiem un ar p53 saistītajiem mehānismiem.

Organism

Cilvēks

Tissue

Vairogdziedzera

Disease

Vairogdziedzera anaplastiskā karcinoma

Synonyms

Hth7, HTh 7, HTh-7, Uhth-7, U-hth7, U-Hth7

Raksturojums

Age

74 gadi

Gender

Sievietes

Morphology

Epitēlija

Growth properties

Adherent

HTH-7 šūnas | 305128

Normatīvie dati

Citation	HTH-7 (Cytion kataloga numurs 305128)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_6289

Biomolekulārie dati

Darbs ar

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,1 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 pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantot 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/cm ²
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.

HTh-7 šūnas | 305128

**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

HTH-7 šūnas | 305128

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.