Product sheet

HCC366 šūnas | 302155

Vispārīga informācija

Description	HCC366 ir cilvēka plaušu adenoskvamozās karcinomas šūnu līnija, kas izveidota no 80 gadus vecas eiropiešu sievietes pacienta ļaundabīgā pleiras izsvīduma, kas iegūts Hamon Vēža centrā, UT Southwestern Medicīnas centrā. Adenoskvamozā karcinoma ir reta, jaukta histoloģiskā neplaušu mazšūnu vēža (NSCLC) apakštipa forma, kurā apvienojas gan adenokarcinomas, gan plakanšūnu karcinomas pazīmes. HCC366 ir iekļauta Vēža atkarības kartē (DepMap), CCLE, COSMIC šūnu līniju un MD Anderson šūnu līniju projekta paneļos. Šai līnijai piemīt homozigota TP53 p.Tyr220Cys mutācija (DNS saistīšanās domēna strukturāla mutācija) un heterozigota ATM p.Pro534Ala mutācija. Tai nav KRAS, EGFR vai STK11 vadītājmutāciju, un tā uzrāda mikrosatelītu stabilitāti (MSS). Dubultošanās laiks ir aptuveni 60–70 stundas. HCC366 ir piemērota neplaušu mazšūnu karcinomas (NSCLC) pētījumiem, jo īpaši pētījumos par plaušu adenoskvamozā karcinoma bioloģiju, kas joprojām ir nepietiekami izpētīta salīdzinājumā ar tīra adenokarcinoma vai plakanšūnu karcinoma apakštipiem. Galvenie pielietojumi ietver: TP53 funkcijas pastiprināšanas mutāciju pētījumus; ATM-mediēta DNS bojājumu reakcija; ķīmijterapijas jutības un rezistences testēšana (cisplatīns, paklitakselis, gemcitabīns); mērķtiecīgo zāļu novērtēšana; zāļu jutības profilēšana DepMap un CCLE sistēmās; biomarķieru atklāšana jaukta histoloģiskā NSCLC gadījumos; salīdzinošā genomika; un proteomikas/transkriptomikas profilēšana. HCC366 ir devis ieguldījumu arī plaušu vēža šūnu bioloģijas pētījumos, tostarp pētījumos par proliferāciju, migrāciju un invāzijas mehānismiem, kas saistīti ar ļaundabīgām pleiras slimībām.
Organism	Cilvēks
Tissue	Plaušas
Disease	Nesmalto šūnu plaušu vēzis
Metastatic site	Ļaundabīgs pleiras izsvīdums (parauga ņemšanas vieta)
Applications	NSCLC pētījumi; plaušu adenoskvamozās karcinomas bioloģija; TP53 p.Tyr220Cys funkcijas pastiprināšanās pētījumi; ATM DNS bojājumu reakcija; jutība pret ķīmijterapiju (cisplatīns, paklitakselis, gemcitabīns); DepMap/CCLE zāļu jutības profilēšana; biomarķieru atklāšana; NSCLC salīdzinošā genomika; ļaundabīgu pleiras slimību bioloģija
Synonyms	HCC-366, HCC0366, Hamona vēža centrs 366

Raksturojums

Age	80 gadi
Gender	Sievietes
Ethnicity	Eiropas

Product sheet

HCC366 šūnas | 302155

Morphology	Epitēlijveidīgs
Cell type	Epitēlija šūnas
Growth properties	Vienslāņa, adhēzija

Normatīvie dati

Citation	HCC366 (Cytion kataloga numurs 302155)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_2059
GMO Status	Bez ģenētiskām modifikācijām; savvaļas tipa NSCLC šūnu līnija ar endogēnām somatiskām mutācijām (TP53 p.Tyr220Cys homozigota; ATM p.Pro534Ala heterozigota)

Biomolekulārie dati

MSI-status	MSS
Mutational profile	TP53 p.Tyr220Cys (c.659A>G) homozigots; ATM p.Pro534Ala (c.1600C>G) heterozigots

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% termiski inaktivētu FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	aptuveni 60 līdz 70 stundas

HCC366 šūnas | 302155

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 pārklājiet 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 5
Seeding density	1 līdz 3 × 10^4 šūnas/cm^2
Fluid renewal	2 līdz 3 reizes nedēļā
Post-Thaw Recovery	Pēc atkausēšanas izsējiet šūnas blīvumā 5 × 10^4 šūnas/cm^2 un pirms pirmās barotnes nomaiņas ļaujiet tām vismaz 24 stundas pielipt.
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.

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% $_{CO2}$, 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.

HCC366 šūnas | 302155

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 slāpeklī 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

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.