

HCC44-cellen | 305456

Algemene informatie

Description

De HCC44-celijn is een model voor niet-kleincellige longkanker (NSCLC) dat bekendstaat om de aanwezigheid van een KRAS-mutatie, die een belangrijke rol speelt bij de progressie van kanker en resistentie tegen behandeling. In een studie naar de kenmerken van KRAS-gedreven NSCLC werd vastgesteld dat HCC44 voor zijn levensvatbaarheid afhankelijk is van malic enzyme 1 (ME1), wat suggereert dat de KRAS-mutatie in deze cellijn de expressie versterkt van genen die betrokken zijn bij het glutaminemetabolisme en de redoxbalans. De rol van ME1 bij het genereren van NADPH helpt bij het tegengaan van oxidatieve stress, wat met name van vitaal belang is voor KRAS-mutante kankercellen die een snelle proliferatie doormaken.

Verder onderzoek naar natuurlijke verbindingen zoals chromomycine-analogen heeft potentiële therapeutische relevantie voor HCC44 aangetoond. Chromomycine SA2 en verwante moleculen werden geëvalueerd op hun cytotoxische effecten op HCC44, waarbij een verminderde werkzaamheid werd aangetoond in vergelijking met andere analogen als gevolg van modificaties in de zijketens die de interactie met DNA beïnvloeden. Daarnaast is de reactie van de cellijn op bestralingstherapie onderzocht, waaruit bleek dat verstoring van het glutaminemetabolisme HCC44 gevoeliger zou kunnen maken voor bestraling, waardoor mogelijk bepaalde aspecten van de door KRAS-mutaties veroorzaakte stralingsresistentie kunnen worden overwonnen.

Organism

Mens

Tissue

Long

Disease

Adenocarcinoom

Synonyms

HCC-44, HCC0044, Hamon Kankercentrum 44

Kenmerken

Age

54 jaar

Gender

Vrouw

Ethnicity

Europese

Morphology

Epitheelachtig

Growth properties

Aanhangend

Regelgevende gegevens

Citation

HCC44 (Cytion-catalogusnummer 305456)

HCC44-cellen | 305456

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_2060

Biomoleculaire gegevens

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

Omgaan met

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiele Glutamine, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820700a)

Supplements Vul het medium aan met 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenderen en vervolgens centrifugereren bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.

Seeding density 1 tot 3×10^4 cellen/cm²

Fluid renewal 2 tot 3 keer per week

Freeze medium Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedum (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

HCC44-cellen | 305456

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan -150 °C om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van 37 °C met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij 300 x g om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole en moleculaire analyse

HCC44-cellen | 305456

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.