Product sheet

HCC366-cellen | 302155

Algemene informatie

Description	HCC366 is een menselijke adenosquameuze longcarcinoomcellijn die is geïsoleerd uit de maligne pleurale effusie van een 80-jarige Europese vrouwelijke patiënte in het Hamon Cancer Center, UT Southwestern Medical Center. Adenosquameus carcinoom is een zeldzaam gemengd histologisch subtype van niet-kleincellige longkanker (NSCLC) dat kenmerken van zowel adenocarcinoom als plaveiselcelcarcinoom combineert. HCC366 is opgenomen in de panelen van de Cancer Dependency Map (DepMap), CCLE, COSMIC-cellijnen en het MD Anderson Cell Lines Project. De lijn draagt een homozygote TP53 p.Tyr220Cys-mutatie (een structurele mutatie van het DNA-bindingsdomein) en een heterozygote ATM p.Pro534Ala-mutatie. De lijn draagt geen KRAS-, EGFR- of STK11-drivermutaties en vertoont microsatellietstabiliteit (MSS). De verdubbelingstijd bedraagt ongeveer 60–70 uur. HCC366 is geschikt voor onderzoek naar niet-kleincellig longcarcinoom (NSCLC), met name voor studies naar de biologie van adenosquameus longcarcinoom, een subtype dat nog onderbelicht is in vergelijking met zuivere adenocarcinoom- of plaveiselcelcarcinoom-subtypes. Belangrijke toepassingen zijn onder meer: onderzoek naar TP53-gain-of-function-mutaties; de door ATM gemedieerde reactie op DNA-schade; het testen van gevoeligheid en resistentie voor chemotherapie (cisplatine, paclitaxel, gemcitabine); de evaluatie van gerichte geneesmiddelen; het opstellen van geneesmiddelgevoeligheidsprofielen binnen de DepMap- en CCLE-kaders; het ontdekken van biomarkers voor NSCLC met gemengde histologie; vergelijkende genomica; en proteomische/transcriptomische profilering. HCC366 heeft ook bijgedragen aan onderzoek naar de celbiologie van longkanker, waaronder proliferatie-, migratie- en invasiemechanismen die relevant zijn voor maligne pleurale aandoeningen.
Organism	Mens
Tissue	Long
Disease	Niet-kleincellige longkanker
Metastatic site	Kwaadaardige pleurale effusie (plaats van monsterafname)
Applications	Onderzoek naar NSCLC; biologie van adenosquameus longcarcinoom; studies naar de gain-of-function van TP53 p.Tyr220Cys; ATM-reactie op DNA-schade; gevoeligheid voor chemotherapie (cisplatine, paclitaxel, gemcitabine); DepMap/CCLE-profilering van geneesmiddelgevoeligheid; ontdekking van biomarkers; vergelijkende genomica bij NSCLC; biologie van maligne pleurale aandoeningen
Synonyms	HCC-366, HCC0366, Hamon Kankercentrum 366

Kenmerken

Age	80 jaar
Gender	Vrouw

HCC366-cellen | 302155

Ethnicity	Europese
Morphology	Epitheelachtig
Cell type	Epitheelcellen
Growth properties	Monolaag, adherent

Regelgevende gegevens

Citation	HCC366 (Cytion catalogusnummer 302155)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_2059
GMO Status	Geen genetische modificatie; wildtype NSCLC-cellijn met endogene somatische mutaties (TP53 p.Tyr220Cys homozygoot; ATM p.Pro534Ala heterozygoot)

Biomoleculaire gegevens

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

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% hitte-geïnactiveerde FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	ongeveer 60 tot 70 uur

HCC366-cellen | 302155

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 centrifugeren 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.
Split ratio	1 tot en met 5
Seeding density	1 tot 3 × 10^4 cellen/cm^2
Fluid renewal	2 tot 3 keer per week
Post-Thaw Recovery	Breng de cellen na het ontdooien uit op een celkweekplaat met een dichtheid van 5 × 10^4 cellen/cm^2 en laat ze ten minste 24 uur hechten voordat u het medium voor het eerst vervangt.
Freeze medium	Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedium (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.

HCC366-cellen | 302155

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%$_{CO2}$, bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Geen

Freezing Procedure

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.

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

Sterility	Mycoplasmaverontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasmadetectiemethoden. Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.