Product sheet

HCC366-celler | 302155

Generell informasjon

Description	HCC366 er en cellekultur av humant adenoskvamøst lungekarsinom, etablert fra ondartet pleuraleffusjon hos en 80 år gammel europeisk kvinnelig pasient ved Hamon Cancer Center, UT Southwestern Medical Center. Adenoskvamøst karsinom er en sjelden, blandet histologisk undertype av ikke-småcellet lungekreft (NSCLC) som kombinerer trekk fra både adenokarsinom og plateepitelkarsinom. HCC366 er inkludert i panelene Cancer Dependency Map (DepMap), CCLE, COSMIC-cellelinjer og MD Anderson Cell Lines Project. Linjen bærer en homozygot TP53 p.Tyr220Cys-mutasjon (en strukturell mutasjon i DNA-bindingsdomenet) og en heterozygot ATM p.Pro534Ala-mutasjon. Den bærer ikke KRAS-, EGFR- eller STK11-drivermutasjoner og viser mikrosatellittstabilitet (MSS). Doblingstiden er omtrent 60–70 timer. HCC366 kan brukes i forskning på ikke-småcellet lungekreft (NSCLC), særlig i studier av biologien til adenoskvamøst lungekreft, som fortsatt er relativt lite undersøkt sammenlignet med subtyper av rent adenokarsinom eller plateepitelkarsinom. Viktige anvendelser inkluderer: studier av TP53-funksjonsgevinstmutasjoner; ATM-mediert DNA-skadereaksjon; testing av følsomhet og resistens overfor kjemoterapi (cisplatin, paklitaksel, gemcitabin); evaluering av målrettede legemidler; profilering av legemiddelfølsomhet innenfor DepMap- og CCLE-rammeverkene; oppdagelse av biomarkører for NSCLC med blandet histologi; komparativ genomikk; samt proteomisk/transkriptomisk profilering. HCC366 har også bidratt til studier av lungekreftcellers biologi, herunder proliferasjons-, migrasjons- og invasjonsmekanismer som er relevante for ondartet pleural sykdom.
Organism	Menneskelig
Tissue	Lunge
Disease	Ikke-småcellet lungekreft
Metastatic site	Malign pleural effusjon (sted for prøvetaking)
Applications	Forskning på ikke-småcellet lungekreft (NSCLC); biologi ved adenoskvamøst lungekreft; studier av funksjonsgevinst ved TP53 p.Tyr220Cys; ATM-respons på DNA-skade; følsomhet for kjemoterapi (cisplatin, paklitaksel, gemcitabin); DepMap/CCLE-profilering av medikamentfølsomhet; oppdagelse av biomarkører; komparativ genomikk ved NSCLC; biologi ved ondartet pleural sykdom
Synonyms	HCC-366, HCC0366, Hamon Cancer Center 366

Kjennetegn

Age	80 år
Gender	Kvinne
Ethnicity	Europeisk

HCC366-celler | 302155

Morphology	Epitel-lignende
Cell type	Epitelceller
Growth properties	Monolag, vedheftende

Regulatoriske data

Citation	HCC366 (Cytion-katalognummer 302155)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_2059
GMO Status	Ingen genetisk modifisering; villtype-NSCLC-cellelinje med endogene somatiske mutasjoner (TP53 p.Tyr220Cys homozygot; ATM p.Pro534Ala heterozygot)

Biomolekylære data

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

Håndtering

Culture Medium	RPMI 1640, m: 2,0 mM stabil glutamin, m: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytion artikkelnummer 820700a)
Supplements	Suppler mediet med 10 % varmeinaktivert FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	ca. 60 til 70 timer

HCC366-celler | 302155

Subculturing	Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspender cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.
Split ratio	1 til 5
Seeding density	1 til 3 × 10^4 celler/cm^2
Fluid renewal	2 til 3 ganger per uke
Post-Thaw Recovery	Etter opptining skal cellene sås med en tetthet på 5 × 10^4 celler/cm^2, og man må vente i minst 24 timer på at de skal feste seg før det første medieskiftet.
Freeze medium	Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoindusert stress.

HCC366-celler | 302155

Thawing and Culturing Cells	1. Kontroller at hetteglasset er dypfryst ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport. 2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under -150 °C for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig. 3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et 37 °C varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen. 4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den. 5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig. 6. Sentrifuger blandingen ved 300 x g i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig. 7. Resuspender cellepelleten forsiktig i 10 ml nytt dyrkningsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst. 8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.
Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, befuktet atmosfære.
Flask Coating	Ingen
Freezing Procedure	Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.
Shipping Conditions	Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Storage Conditions	For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll og molekylær analyse

Sterility	Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma. For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.