

Komórki HCC38 | 305307

Informacje ogólne

Description

Linia komórkowa HCC38 to potrójnie ujemny model raka piersi (TNBC), charakteryzujący się brakiem ekspresji receptora estrogenowego (ER), receptora progesteronowego (PR) i HER2, co czyni go krytycznym narzędziem do badania agresywnych podtypów raka piersi, które nie reagują na terapię hormonalną lub ukierunkowaną na HER2. Komórki HCC38 są szczególnie cenne w badaniach nad opornością na leczenie i mechanizmami napędzającymi progresję TNBC. Na przykład, ekspozycja na cisplatynę może prowadzić do rozwoju podklonów opornych na cisplatynę, takich jak HCC38CisR, które wykazują zwiększoną aktywację szlaków pro-przeżycia, w których pośredniczą receptorowe kinazy tyrozynowe (np. IGF1R i EGFR). Oporności tej można przeciwdziałać za pomocą terapii celowanych, takich jak NVP-BEZ235, podwójny inhibitor PI3K/mTOR, który wykazał potencjał przywracania wrażliwości na cisplatynę w HCC38CisR.

Ponadto, linia komórkowa HCC38 była badana w kontekście mechanizmów apoptozy i inwazji. Wykazano, że knockdown określonych genów, takich jak OC90, znacząco zmniejsza żywotność komórek i zwiększa apoptozę w HCC38, podkreślając rolę określonych celów molekularnych w przetrwaniu komórek i zachowaniu inwazyjnym. Ta cecha jest istotna dla identyfikacji nowych podejść terapeutycznych dla TNBC. Co więcej, odpowiedź HCC38 na leczenie, w tym mechanizmy oporności, podkreśla jego przydatność do badania kombinacji leków, które mogłyby obejść oporność i zwiększyć skuteczność leczenia.

Co więcej, badania z HCC38 wykazały skuteczność drobnocząsteczkowych inhibitorów w przewyżczeniu oporności w połączeniu z konwencjonalnymi chemioterapeutykami. Na przykład, strategie współleczenia obejmujące inhibitory PI3K/mTOR wraz z tradycyjnymi środkami chemioterapeutycznymi są obiecujące w zmniejszaniu wskaźników proliferacji i indukowaniu apoptozy w opornych wariantach komórek. Takie odkrycia przyczyniają się do rozwoju terapii celowanych, które stawiają czoła wyzwaniom związanym z opornością na leczenie w TNBC.

Organism Człowiek**Tissue** Piersć**Disease** Rak**Synonyms** Hcc38, HCC-38, HCC 38 HCC0038, Hamon Cancer Center 38

Charakterystyka

Age 50 lat**Gender** Kobieta**Ethnicity** Kaukaski**Morphology** Podobny do nabłonka

Komórki HCC38 | 305307**Cell type** Komórka nabłonkowa**Growth properties** Przylegające, pojedyncze komórki i luźno połączone skupiska**Dane regulacyjne****Citation** HCC38 (numer katalogowy Cytion 305307)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1267**Dane biomolekularne****Protein expression** Glikoproteina nabłonkowa 2 (EGP2), cytokeratyna 19**Oncogenes** Her2/neu-, p53+**Mutational profile** Mutacja: TP53, p.Arg273Leu (c.818G>T), homozygotyczna**Obsługa****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnej glutaminy, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (numer artykułu Cytion 820700a)**Supplements** Uzupełnić podłoże 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Usunąć starą pożywkę z przylegających komórek i przemyć je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.

Komórki HCC38 | 305307**Split ratio** Zalecany jest stosunek 1:2 do 1:4**Fluid renewal** 2 do 3 razy w tygodniu**Freeze medium** Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.**Thawing and
Culturing Cells**

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

**Incubation
Atmosphere** 37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.**Flask Coating** Brak

Komórki HCC38 | 305307

Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości i analiza molekularna

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.