

Komórki HCC44 | 305456

Informacje ogólne

Description

Linia komórkowa HCC44 stanowi model niedrobnokomórkowego raka płuca (NSCLC), znany z obecności mutacji genu KRAS, która odgrywa istotną rolę w progresji nowotworu i oporności na leczenie. W badaniu poświęconym charakterystyce NSCLC wywołanego mutacją KRAS stwierdzono, że żywotność linii HCC44 jest uzależniona od enzymu malowego 1 (ME1), co sugeruje, że mutacja KRAS w tej linii komórkowej wzmacnia ekspresję genów zaangażowanych w metabolizm glutaminy i równowagę redoks. Rola ME1 w wytwarzaniu NADPH pomaga w przeciwdziałaniu stresowi oksydacyjnemu, co jest szczególnie istotne dla komórek nowotworowych z mutacją KRAS przechodzących szybką proliferację.

Dalsze badania nad związkami naturalnymi, takimi jak analogi chromomycyny, wykazały potencjalne znaczenie terapeutyczne dla HCC44. Chromomycyna SA2 i pokrewne cząsteczki zostały ocenione pod kątem ich działania cytotoksycznego na HCC44, wykazując zmniejszoną siłę działania w porównaniu z innymi analogami z powodu modyfikacji łańcuchów bocznych, które wpływają na ich interakcję z DNA. Ponadto zbadano reakcję linii komórkowej na radioterapię, co wskazuje, że zaburzenie metabolizmu glutaminy może uwrażliwić HCC44 na promieniowanie, potencjalnie pokonując niektóre aspekty oporności na promieniowanie wynikające z mutacji KRAS.

Organism

Człowiek

Tissue

Płuco

Disease

Gruczolakorak

Synonyms

HCC-44, HCC0044, Centrum Onkologiczne Hamon 44

Charakterystyka

Age

54 lata

Gender

Kobieta

Ethnicity

Europejski

Morphology

Podobny do nabłonka

Growth properties

Adherent

Dane regulacyjne

Citation

HCC44 (numer katalogowy Cytion 305456)

Komórki HCC44 | 305456

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_2060

Dane biomolekularne

Mutational profile Mutacja: KRAS, p.Gly12Cys (c.34G>T), homozygotyczna; Mutacja: TERT, c.1-124C>A (c.228C>A); Mutacja: TP53, p.Ser94Ter (c.281C>G), homozygotyczna; Mutacja: TP53, p.Arg175Leu (c.524G>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 Usun starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj 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.

Seeding density 1 do 3×10^4 komórek/cm²

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.

Komórki HCC44 | 305456**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.

**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 fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

**Storage
Conditions**

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki 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.

Komórki HCC44 | 305456

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.