

Komórki HCC70 | 305464

Informacje ogólne

Description

Linia komórkowa HCC70 pochodzi z potrójnie ujemnego raka piersi (TNBC), podtypu, który nie wykazuje ekspresji receptorów estrogenowych, progesteronowych i HER2, co utrudnia leczenie ze względu na ograniczone terapie celowane. Komórki HCC70 wyróżniają się klasyfikacją podstawno-podobną 1 (BL1) w ramach podtypów TNBC, co wpływa na ich odpowiedź na chemioterapię i strategię leczenia. Co ważne, komórki HCC70 wykazują znaczną ekspresję receptora estrogenowego GPR30 sprzężonego z białkiem G. GPR30 został powiązany z szybką odpowiedzią sygnalizacyjną na estrogeny, takie jak 17 β -estradiol, wpływając na proliferację komórek i inne szlaki onkogenne.

Kluczową cechą genetyczną HCC70 jest obecność mutacji TP53, w szczególności wariantu R248Q. Mutacja ta jest związana z fenotypami zysku funkcji (GOF), które przyczyniają się do przeżycia komórek nowotworowych i agresywnego zachowania. W badaniach mutacja R248Q w komórkach HCC70 została powiązana ze zwiększoną odkształcalnością komórek i zmienioną lokalizacją PARP1, co sugeruje potencjalną wrażliwość na inhibitory PARP.

Badania nad odpowiedzią na leki w HCC70 i podobnych liniach komórkowych TNBC podkreśliły skuteczność inhibitorów proteasomu i terapii opartych na platynie. Terapie te okazały się obiecujące, a leki takie jak bortezomib wykazują działanie cytotoksyczne. Wzajemne oddziaływanie między opornością na chemioterapię a specyficzną sygnalizacją receptorową, taką jak ta, w której pośredniczy GPR30, podkreśla złożoność celowania w podtypy TNBC, takie jak te modelowane przez HCC70.

Organism

Człowiek

Tissue

Gruczoł sutkowy

Disease

Rak przewodowy piersi

Synonyms

HCC-70, HCC 70, HCC0070, Hamon Cancer Center 70

Charakterystyka

Age

49 lat

Gender

Kobieta

Ethnicity

Afroamerykanin

Morphology

Podobny do nabłonka

Cell type

Komórka nabłonkowa

Komórki HCC70 | 305464**Growth properties** Adherent**Dane regulacyjne****Citation** HCC70 (numer katalogowy Cytion 305464)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1270**Dane biomolekularne****Protein expression** Glikoproteina nabłonkowa 2 (EGP2), cytokeratyna 19**Oncogenes** Her2/neu-, p53+ (z nadekspresją)**Obsługa****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnej glutaminy, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (numer artykułu Cytion 820700a)**Supplements** Uzupelnic podloze 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Usuń 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.**Split ratio** Stosunek 1:4 do 1:6 jest zalecany dla rutynowych hodowli.**Fluid renewal** 2 do 3 razy w tygodniu

Komórki HCC70 | 305464

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 HCC70 | 305464

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 fiolki 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 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.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczone 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.