

Komórki UM-HMC-3B | 305715

Informacje ogólne

Description

UM-HMC-3B to ludzka linia komórkowa raka śluzowo-naskórkowego, wyhodowana z pierwotnego raka śluzowo-naskórkowego gruczołów ślinowych podniebienia twardego u 73-letniej pacjentki rasy kaukaskiej. Linia ta wchodzi w skład panelu ludzkich raków śluzowo-naskórkowych Uniwersytetu Michigan (UM-HMC). Podobnie jak UM-HMC-1, linia UM-HMC-3B zawiera fuzję genów CRTC1-MAML2 (MECT1-MAML2), która jest czynnikiem onkogennym w większości przypadków raka śluzowo-naskórkowego i wynika z translokacji t(11;19)(q21;p13) i powoduje aktywację szlaków CREB oraz Notch.

UM-HMC-3B ma zastosowanie w badaniach nad biologią raka śluzowo-naskórkowego podniebienia twardego i gruczołów ślinowych, sygnalizacją CRTC1-MAML2 oraz w analizach porównawczych z innymi liniami z panelu UM-HMC. Wraz z linią UM-HMC-1 i innymi liniami z panelu UM-HMC-3B umożliwia identyfikację wspólnych i rozbieżnych cech molekularnych w rakach śluzowo-naskórkowych występujących w różnych lokalizacjach anatomicznych, u osób w różnym wieku i obu płci. Nadaje się również do badań wrażliwości na leki ukierunkowanych na onkoproteiny fuzyjne oraz dalsze efektorowe cząsteczki szlaków CREB/Notch.

Organism

Człowiek

Tissue

Podniebienie twarde, gruczoł ślinowy

Disease

Rak śluzowo-naskórkowy podniebienia twardego

Metastatic site

Lokalizacja guza pierwotnego (podniebienie twarde)

Applications

Badania nad rakiem gruczołów ślinowych; biologia fuzji CRTC1-MAML2; biologia MEC podniebienia twardego; szlak CREB/Notch; porównawcze badania panelowe UM-HMC; testy wrażliwości na leki

Synonyms

Uniwersytet Michigan – ludzki rak śluzowo-naskórkowy – 3B

Charakterystyka

Age

73 lata

Gender

Kobieta

Ethnicity

Kaukaski

Morphology

Podobny do nabłonka

Cell type

Komórki nabłonkowe

Komórki UM-HMC-3B | 305715

Growth properties

Adherent

Dane regulacyjne

Citation UM-HMC-3B (numer katalogowy Cytion 305715)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_Y472**GMO Status** Brak modyfikacji genetycznej; somatyczna fuzja genów CRTC1 i MAML2 powstała w trakcie rozwoju nowotworu

Dane biomolekularne

Mutational profile Mutacja: Fuzja genów, CRTC1 + HGNC, MAML2, Nazwa(-y)=CRTC1-MAML2, MECT1-MAML2.

Obsługa

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glukozy, w: 2,5 mM L-glutaminy, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM pirogronianu sodu, w: 1,2 g/l NaHCO₃ (numer artykułu Cytion 820400a)**Supplements** Uzupełnić podłoże 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** ok. 24–48 godzin**Subculturing** Usunąć pożywkę, przemyć komórki roztworem PBS bez wapnia i magnezu, zalać preparatem Accutase, inkubować przez 8–10 minut w temperaturze pokojowej, zawiesić komórki w pożywce, odwirować przy 300×g przez 3 minuty, odrzucić supernatant, ponownie zasiać komórki w świeżej pożywce.**Split ratio** od 1 do 5**Seeding density** 2–4 × 10⁴/cm²

Komórki UM-HMC-3B | 305715**Fluid renewal**

Co 2 do 3 dni

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**

Należy stosować kolby pokryte kolagenem

Komórki UM-HMC-3B | 305715

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.