

Komórki HTh-7 | 305128

Informacje ogólne

Description

Linia komórkowa HTh-7 stanowi model ludzkiego anaplastycznego raka tarczycy (ATC) i jest szeroko stosowana do badania agresywnego charakteru tego nowotworu złośliwego. ATC charakteryzuje się szybkim postępem, opornością na konwencjonalne terapie oraz złym rokowaniem. Komórki HTh-7 wykazują złożone nieprawidłowości chromosomowe typowe dla ATC, w tym specyficzne zyski i utraty regionów chromosomowych, takich jak chromosom 20q, które są związane z progresją nowotworu. Komórki te nie zawierają powszechnej mutacji BRAF V600E, która często występuje w raku brodawkowatym tarczycy, ale rzadziej w ATC, co podkreśla różnorodność czynników onkogennych w różnych nowotworach tarczycy.

Dalsza charakterystyka genomowa linii komórkowej HTh-7 ujawnia częste mutacje w promotorze TERT, co jest cechą charakterystyczną agresywnych nowotworów tarczycy. Komórki wykazują delecję w kopii TERT typu dzikiego, co sugeruje obecność homozygotycznej mutacji promotora TERT, która prawdopodobnie przyczynia się do ich agresywnego fenotypu poprzez promowanie aktywacji telomerazy. Komórki HTh-7 niosą również mutacje w genie TP53, prowadzące do całkowitej utraty funkcji p53, co jest częstym zjawiskiem w ATC i czynnikiem powodującym niestabilność genomową. Ta utrata funkcji często wiąże się z innymi mutacjami, takimi jak w genie PTEN i genach zaangażowanych w szlak PI3K/AKT/mTOR, co dodatkowo podkreśla przydatność HTh-7 jako modelu do badania molekularnych podstaw ATC.

Komórki HTh-7 wykazują również znaczną dedyferencjację, o czym świadczą niskie wyniki w skali różnicowania tarczycy (TDS), podobne do tych obserwowanych w nowotworach ATC. Ta dedyferencjacja jest charakterystyczna dla zaawansowanych nowotworów tarczycy i znajduje odzwierciedlenie w głębokiej utracie ekspresji genów specyficznych dla tarczycy, co czyni HTh-7 idealnym modelem do badania mechanizmów dedyferencji raka tarczycy i związanych z tym wyzwań terapeutycznych. Profil genetyczny tej linii komórkowej, w tym zmiany w genach TP53 i TERT, podkreśla jej znaczenie dla badań przedklinicznych mających na celu poszukiwanie nowych metod leczenia ATC, zwłaszcza tych ukierunkowanych na szlaki związane z utrzymaniem telomerów i mechanizmy związane z p53.

Organism

Człowiek

Tissue

Tarczycza

Disease

Rak anaplastyczny gruczołu tarczowego

Synonyms

Hth7, HTh 7, HTh-7, Uhth-7, U-hth7, U-Hth7

Charakterystyka

Age

74 lata

Gender

Kobieta

Morphology

Nabłonek

Komórki HTh-7 | 305128

Growth properties

Adherent

Dane regulacyjne

Citation HTh-7 (numer katalogowy Cytion 305128)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_6289

Dane biomolekularne

Obsługa

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,1 mM stabilnej glutaminy, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (numer artykułu Cytion 820700a)**Supplements** Uzupełnić podłoże 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 1:2 do 1:5**Seeding density** 1 do 3×10^4 komórek/cm²**Fluid renewal** 2 do 3 razy w tygodniu

Komórki HTh-7 | 305128**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.

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.

Komórki HTh-7 | 305128**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.

Profil STR

Amelogenin: x,x

CSF1PO: 12

D13S317: 11,14

D16S539: 9,13

D5S818: 11

D7S820: 8,11

TH01: 9,9.3

TPOX: 11

vWA: 14,18

D3S1358: 14,15

D21S11: 29,3

D18S51: 16

Penta E: 12

Penta D: 10,11

D8S1179: 12,13

FGA: 20,23

D6S1043: 14,15,20

D2S1338: 19,2

D12S391: 23

D19S433: 12,13