

Bunky HCC44 | 305456

Všeobecné informácie

Description

Bunka HCC44 je modelom nemalobunkového karcinómu pľúc (NSCLC), ktorý je známy prítomnosťou mutácie génu KRAS, ktorá zohráva významnú úlohu v progresi rakoviny a rezistencii voči liečbe. V štúdii skúmajúcej charakteristiky NSCLC riadeného KRAS bola HCC44 identifikovaná ako závislá na malátovom enzýme 1 (ME1) pre životaschopnosť, čo naznačuje, že mutácia KRAS v tejto bunkovej línii zvyšuje expresiu génov zapojených do metabolismu glutamínu a redoxovej rovnováhy. Úloha ME1 pri tvorbe NADPH pomáha pri potláčaní oxidačného stresu, čo je obzvlášť dôležité pre rakovinové bunky s mutáciou KRAS, ktoré prechádzajú rýchlou proliferáciou.

Ďalší výskum prírodných zlúčenín, ako sú analógy chromomycínu, preukázal potenciálny terapeutický význam pre HCC44. Chromomycín SA2 a súvisiace molekuly boli hodnotené z hľadiska ich cytotoxických účinkov na HCC44, pričom vykazovali zníženú účinnosť v porovnaní s inými analógmi v dôsledku modifikácií v bočných reťazcoch, ktoré ovplyvňujú ich interakciu s DNA. Okrem toho bola študovaná reakcia buneckej línie na rádioterapiu, čo naznačuje, že narušenie metabolismu glutamínu by mohlo zvýšiť citlivosť HCC44 na žiarenie, čím by sa potenciálne prekonal niektoré aspekty radioresistencie spôsobené mutáciami KRAS.

Organism

Ľudské

Tissue

Pľúca

Disease

Adenokarcinóm

Synonyms

HCC-44, HCC0044, Onkologické centrum Hamon 44

Charakteristika

Age

54 rokov

Gender

Ženy

Ethnicity

Európska

Morphology

Epitelu podobné

Growth properties

Adherent

Regulačné údaje

Citation

HCC44 (katalógové číslo Cytion 305456)

Biosafety level

1

Bunky HCC44 | 305456**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_2060**Biomolekulárne údaje****Mutational profile** Mutácia: KRAS, p.Gly12Cys (c.34G>T), homozygotná; Mutácia: TERT, c.1-124C>A (c.228C>A); Mutácia: TP53, p.Ser94Ter (c.281C>G), homozygotná; Mutácia: TP53, p.Arg175Leu (c.524G>T), homozygotná**Spracovanie****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilný glutamín, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (číslo výrobku Cytion 820700a)**Supplements** Doplníte médium o 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredíte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.**Seeding density** 1 až 3 x 10⁴ buniek/cm²**Fluid renewal** 2 až 3-krát týždenne**Freeze medium** Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie obnovy a zníženie stresu spôsobeného kryom.

Bunky HCC44 | 305456

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality a molekulárna analýza

Bunky HCC44 | 305456

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.