

Celice HCC44 | 305456

Splošne informacije

Description

Celična linija HCC44 je model nedrobnoceličnega pljučnega raka (NSCLC), znan po prisotnosti mutacije KRAS, ki ima pomembno vlogo pri napredovanju raka in odpornosti na zdravljenje. V študiji, ki je raziskovala značilnosti NSCLC, pogojenega z mutacijo KRAS, je bilo ugotovljeno, da je HCC44 za preživetje odvisna od malatne encime 1 (ME1), kar kaže, da mutacija KRAS v tej celični liniji poveča izražanje genov, vpletenih v metabolizem glutamina in redoksno ravnovesje. Vloga ME1 pri nastajanju NADPH pomaga pri boju proti oksidativnemu stresu, kar je še posebej pomembno za rakave celice z mutacijo KRAS, ki se hitro razmnožujejo.

Nadaljnje raziskave naravnih spojin, kot so analogi kromomicina, so pokazale potencialno terapevtsko pomembnost za HCC44. Kromomicin SA2 in sorodne molekule so bile ocenjene glede na njihove citotoksične učinke na HCC44, pri čemer so pokazale zmanjšano moč v primerjavi z drugimi analogi zaradi modifikacij v stranskih verigah, ki vplivajo na njihovo interakcijo z DNA. Poleg tega je bil proučen odziv celične linije na radioterapijo, kar kaže, da bi motnja metabolizma glutamina lahko občutljivila HCC44 na sevanje, s čimer bi se morda premagali nekateri vidiki radioresistence, ki jo povzročajo mutacije KRAS.

Organism Človek**Tissue** Pljuča**Disease** Adenokarcinom**Synonyms** HCC-44, HCC0044, Onkološki center Hamon 44

Značilnosti

Age 54 let**Gender** Ženske**Ethnicity** Evropski**Morphology** Epitelijam podobni**Growth properties** Pripadajoče

Regulativni podatki

Citation HCC44 (katalogska številka Cytion 305456)**Biosafety level** 1

Celice HCC44 | 305456**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_2060**Biomolekularni podatki****Mutational profile** Mutacija: KRAS, p.Gly12Cys (c.34G>T), homozigotna; Mutacija: TERT, c.1-124C>A (c.228C>A); Mutacija: TP53, p.Ser94Ter (c.281C>G), homozigotna; Mutacija: TP53, p.Arg175Leu (c.524G>T), homozigotna**Ravnanje s spletno stranjo****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnega glutamina, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (številka izdelka Cytion 820700a)**Supplements** Gojišče dopolnite z 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavrzite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.**Seeding density** 1 do 3×10^4 celic/cm²**Fluid renewal** 2 do 3-krat na teden**Freeze medium** Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročenega s kriom.

Celice HCC44 | 305456

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu kriovial takoj shranite pri temperaturi pod -150°C , da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri 37°C ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $300 \times g$ 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78°C . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vial postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196°C . Shranjevanje pri -80°C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Kontrola kakovosti in molekularna analiza

Celice HCC44 | 305456

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.