

Клітини HCC44 | 305456

Загальна інформація

Description

Клітинна лінія HCC44 є моделлю недрібноклітинного раку легенів (НДКРЛ), яка відома наявністю мутації KRAS, що відіграє значну роль у прогресуванні раку та резистентності до лікування. У дослідженні, присвяченому вивченню характеристик НДРЛ, спричиненого мутацією KRAS, було встановлено, що життєздатність клітин HCC44 залежить від малінової ферменту 1 (ME1), що свідчить про те, що мутація KRAS у цій клітинній лінії посилює експресію генів, залучених до метаболізму глютаміну та окисно-відновного балансу. Роль ME1 у утворенні NADPH сприяє протидії окисному стресу, що є особливо важливим для ракових клітин із мутацією KRAS, які швидко проліферують.

Подальші дослідження природних сполук, таких як аналоги хромоміцину, показали потенційну терапевтичну значимість для HCC44. Хромоміцин SA2 та споріднені молекули були оцінені на предмет їх цитотоксичного впливу на HCC44, що показало знижену ефективність порівняно з іншими аналогами через модифікації бічних ланцюгів, які впливають на їх взаємодію з ДНК. Крім того, було досліджено реакцію клітинної лінії на променеви терапію, що вказує на те, що порушення метаболізму глютаміну може підвищити чутливість HCC44 до опромінення, потенційно долаючи деякі аспекти радіорезистентності, зумовлені мутаціями KRAS.

Organism

Людина

Tissue

Легені

Disease

Аденокарцинома

Synonyms

HCC-44, HCC0044, Онкологічний центр Хамона 44

Характеристики

Age

54 роки

Gender

Жінка

Ethnicity

Європейський

Morphology

Епітеліальноподібні

Growth properties

Адепт

Нормативні дані

Citation

HCC44 (номер у каталозі Cytion 305456)

Клітини HCC44 | 305456

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_2060

Біомолекулярні дані

Mutational profile	Мутація: KRAS, p.Gly12Cys (c.34G>T), гомозиготна; Мутація: TERT, c.1-124C>A (c.228C>A); Мутація: TP53, p.Ser94Ter (c.281C>G), гомозиготна; Мутація: TP53, p.Arg175Leu (c.524G>T), гомозиготна
--------------------	---

Обробка

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM стабільний глютамін, w: 2,0 г/л NaHCO ₃ (номер за каталожним номером 820700a)
----------------	---

Supplements	Додайте до середовища 10% FBS
-------------	-------------------------------

Dissociation Reagent	Аккутаза
----------------------	----------

Subculturing	Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300хg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.
--------------	--

Seeding density	Від 1 до 3×10^4 клітин/см ²
-----------------	---

Fluid renewal	2-3 рази на тиждень
---------------	---------------------

Freeze medium	Як середовище кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.
---------------	---

Клітини HCC44 | 305456

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче -150°C , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануливши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при $300 \times g$ протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтесь встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , волога атмосфера.

**Shipping
Conditions**

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірених ізольованих упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78°C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і без зволікань перемістіть флакони у відповідне місце зберігання.

**Storage
Conditions**

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196°C . Зберігання при -80°C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Клітини HCC44 | 305456

Контроль якості та молекулярний аналіз

Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.