Product sheet

Клітини HCC366 | 302155

Загальна інформація

Description	HCC366 — це клітинна лінія аденосквамозної карциноми легенів людини, отримана з злоякісного плеврального випоту 80-річної пацієнтки європейського походження в Онкологічному центрі Хамона при Медичному центрі UT Southwestern. Аденосквамозна карцинома — це рідкісний змішаний гістологічний підтип недрібноклітинного раку легенів (НДКРЛ), що поєднує ознаки як аденокарциноми, так і плоскоклітинної карциноми. HCC366 входить до панелей «Карти залежності раку» (DepMap), CCLE, клітинних ліній COSMIC та проєкту клітинних ліній MD Anderson. Ця лінія несе гомозиготну мутацію TP53 p.Tyr220Cys (структурну мутацію домену зв'язування з ДНК) та гетерозиготну мутацію ATM p.Pro534Ala. Вона не несе драйверних мутацій KRAS, EGFR або STK11 та демонструє мікросателітну стабільність (MSS). Час подвоєння становить приблизно 60–70 годин. HCC366 застосовується в дослідженнях НДРЛ, зокрема в дослідженнях біології аденосквамозної карциноми легенів, яка залишається недостатньо вивченою порівняно з підтипами чистої аденокарциноми або плоскоклітинної карциноми. Основні сфери застосування включають: дослідження мутацій TP53 із посиленням функції; реакцію на пошкодження ДНК, опосередковану ATM; тестування чутливості та резистентності до хіміотерапії (цисплатин, паклітаксел, гемцитабін); оцінку цільових препаратів; профілювання чутливості до ліків у рамках DepMap та CCLE; виявлення біомаркерів для НДРЛ зі змішаною гістологією; порівняльну геноміку; а також протеомне/транскриптомне профілювання. Лінія HCC366 також зробила внесок у дослідження клітинної біології раку легенів, зокрема механізмів проліферації, міграції та інвазії, що мають значення для злоякісних захворювань плеври.
Organism	Людина
Tissue	Легені
Disease	Недрібноклітинний рак легенів
Metastatic site	Злоякісний плевральний випіт (місце забору зразка)
Applications	Дослідження недрібноклітинного раку легенів (NSCLC); біологія аденосквамозної карциноми легенів; дослідження набуття функції гена TP53 p.Tyr220Cys; реакція ATM на пошкодження ДНК; чутливість до хіміотерапії (цисплатин, паклітаксел, гемцитабін); профілювання чутливості до ліків за допомогою DepMap/CCLE; виявлення біомаркерів; порівняльна геноміка НДРЛ; біологія злоякісних захворювань плеври
Synonyms	HCC-366, HCC0366, Онкологічний центр Хамон 366

Характеристики

Age	80 років
Gender	Жінка

Клітини HCC366 | 302155

Ethnicity	Європейський
Morphology	Епітеліальноподібні
Cell type	Епітеліальні клітини
Growth properties	Одношаровий, адгезійний

Нормативні дані

Citation	HCC366 (номер за каталогом Cytion 302155)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_2059
GMO Status	Без генетичної модифікації; клітинна лінія недрібноклітинного раку легенів (NSCLC) дикого типу з ендогенними соматичними мутаціями (гомозиготна мутація TP53 p.Tyr220Cys; гетерозиготна мутація ATM p.Pro534Ala)

Біомолекулярні дані

MSI-status	MSS
Mutational profile	TP53 p.Tyr220Cys (c.659A>G) — гомозиготний; ATM p.Pro534Ala (c.1600C>G) — гетерозиготний

Обробка

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 мМ стабільний глютамін, w: 2,0 г/л NaHCO3 (номер за каталожним номером 820700a)
Supplements	Додайте до середовища 10% термоінактивованого FBS
Dissociation Reagent	Аккутаза
Doubling time	приблизно від 60 до 70 годин

Клітини HCC366 | 302155

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 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.
Split ratio	від 1 до 5
Seeding density	від 1 до 3 × 10^4 клітин/$см^2$
Fluid renewal	2-3 рази на тиждень
Post-Thaw Recovery	Після розморожування висійте клітини з щільністю 5 × 10^4 клітин/$см^2$ і дайте їм прикріпитися протягом щонайменше 24 годин перед першою заміною середовища.
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 HCC366 | 302155

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, зануривши 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 x 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% $_{CO2}$, волога атмосфера.

Flask Coating

Ні

Freezing Procedure

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

Клітини HCC366 | 302155

Shipping Conditions	Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій 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.

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, грибкового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.