

Células HCC366 | 302155

Informações gerais

Description

A HCC366 é uma linhagem celular de carcinoma adenoescamoso pulmonar humano, isolada a partir do derrame pleural maligno de uma paciente europeia de 80 anos no Hamon Cancer Center, do UT Southwestern Medical Center. O carcinoma adenoescamoso é um subtipo histológico misto raro do câncer de pulmão de células não pequenas (NSCLC), que combina características tanto do adenocarcinoma quanto do carcinoma de células escamosas. A HCC366 está incluída nos painéis do Cancer Dependency Map (DepMap), CCLE, linhas celulares COSMIC e no MD Anderson Cell Lines Project. A linhagem apresenta uma mutação homozigótica TP53 p.Tyr220Cys (uma mutação estrutural do domínio de ligação ao DNA) e uma mutação heterozigótica ATM p.Pro534Ala. Ela não apresenta mutações impulsionadoras em KRAS, EGFR ou STK11 e exibe estabilidade de microssatélites (MSS). O tempo de duplicação é de aproximadamente 60 a 70 horas.

A HCC366 é aplicável em pesquisas sobre NSCLC, particularmente em estudos da biologia do carcinoma adenoescamoso de pulmão, que ainda é pouco estudado em comparação com os subtipos de adenocarcinoma puro ou carcinoma de células escamosas. As principais aplicações incluem: estudos de mutações de ganho de função do TP53; resposta a danos no DNA mediada por ATM; testes de sensibilidade e resistência à quimioterapia (cisplatina, paclitaxel, gemcitabina); avaliação de agentes direcionados; perfil de sensibilidade a medicamentos nas estruturas DepMap e CCLE; descoberta de biomarcadores para NSCLC de histologia mista; genômica comparativa; e perfil proteômico/transcriptômico. A linha celular HCC366 também contribuiu para estudos da biologia celular do câncer de pulmão, incluindo mecanismos de proliferação, migração e invasão relevantes para a doença pleural maligna.

Organism

Humano

Tissue

Pulmão

Disease

Câncer de pulmão de células não pequenas

Metastatic site

Derrame pleural maligno (local de coleta da amostra)

Applications

Pesquisa sobre NSCLC; biologia do carcinoma adenoescamoso de pulmão; estudos sobre o ganho de função do TP53 p.Tyr220Cys; resposta do ATM a danos no DNA; sensibilidade à quimioterapia (cisplatina, paclitaxel, gemcitabina); Perfil de sensibilidade a medicamentos com DepMap/CCLE; descoberta de biomarcadores; genômica comparativa do NSCLC; biologia da doença pleural maligna

Synonyms

HCC-366, HCC0366, Centro de Câncer Hamon 366

Características

Age

80 anos

Gender

Mulher

Células HCC366 | 302155

Ethnicity	Europeu
Morphology	De tipo epitelial
Cell type	Células epiteliais
Growth properties	Monocamada, aderente

Dados regulatórios

Citation	HCC366 (número de catálogo da Cytion 302155)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_2059
GMO Status	Sem modificação genética; linhagem celular de NSCLC do tipo selvagem com mutações somáticas endógenas (TP53 p.Tyr220Cys homozigótica; ATM p.Pro534Ala heterozigótica)

Dados biomoleculares

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

Manuseio

Culture Medium	RPMI 1640, com 2,0 mM de glutamina estável e 2,0 g/L de NaHCO ₃ (número de artigo da Cytion: 820700a)
Supplements	Adicione ao meio 10% de FBS inativado por calor
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	aproximadamente 60 a 70 horas

Células HCC366 | 302155

Subculturing Remova o meio antigo das células aderentes e lave-as com PBS sem cálcio nem magnésio. Para frascos T25, use 3 a 5 ml de PBS; para frascos T75, use 5 a 10 ml. Em seguida, cubra as células completamente com Accutase, utilizando 1 a 2 ml para frascos T25 e 2,5 ml para frascos T75. Deixe as células incubarem à temperatura ambiente por 8 a 10 minutos para que se desprendam. Após a incubação, misture delicadamente as células com 10 ml de meio para ressuspender, depois centrifugue a 300xg por 3 minutos. Descarte o sobrenadante, ressuspenda as células em meio fresco e transfira-as para novos frascos que já contenham meio fresco.

Split ratio 1 a 5

Seeding density 1 a 3×10^4 células/cm²

Fluid renewal 2 a 3 vezes por semana

Post-Thaw Recovery Após o descongelamento, semeie as células a uma densidade de 5×10^4 células/cm² e aguarde pelo menos 24 horas para que se fixem antes da primeira troca de meio.

Freeze medium Como meio de criopreservação, utilizamos meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% de DMSO para garantir viabilidade adequada após o descongelamento, ou CM-1 (número de catálogo da Cytion 800100), que inclui osmoprotetores e estabilizadores metabólicos otimizados para melhorar a recuperação e reduzir o estresse induzido pela criopreservação.

Células HCC366 | 302155

Thawing and Culturing Cells

1. Verifique se o frasco permanece profundamente congelado no momento da entrega, pois as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após o recebimento, armazene o criovial imediatamente a temperaturas abaixo de -150 °C para garantir a preservação da integridade celular ou prossiga para a etapa 3, caso seja necessária a cultura imediata.
3. Para cultura imediata, descongele rapidamente o frasco imergindo-o em um banho-maria a 37 °C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente por 40 a 60 segundos até que reste apenas um pequeno pedaço de gelo.
4. Realize todas as etapas subsequentes em condições estéreis em uma cabine de fluxo, desinfetando o criovial com etanol a 70% antes de abri-lo.
5. Abra cuidadosamente o frasco desinfetado e transfira a suspensão celular para um tubo de centrifuga de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando delicadamente.
6. Centrifugue a mistura a 300 x g por 3 minutos para separar as células e descarte cuidadosamente o sobrenadante contendo o meio de congelamento residual.
7. Ressuspender suavemente o sedimento celular em 10 ml de meio de cultura fresco. Para células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; para culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 a fim de promover a interação e o crescimento celular eficazes.
8. Siga os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento contínuo e a manutenção da linhagem celular, garantindo resultados experimentais confiáveis.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5% de CO₂, atmosfera umidificada.

Shipping Conditions

As linhagens celulares criopreservadas são enviadas em gelo seco, em embalagens isoladas e validadas, com refrigerante suficiente para manter a temperatura em aproximadamente -78 °C durante todo o transporte. Ao receber a remessa, inspecione o recipiente imediatamente e transfira os frascos sem demora para o local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para preservação a longo prazo, coloque os frascos em nitrogênio líquido em fase de vapor a uma temperatura entre aproximadamente -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como uma etapa intermediária de curta duração antes da transferência para o nitrogênio líquido.

Controle de Qualidade e Análise Molecular

Células HCC366 | 302155

Sterility

A contaminação por micoplasma é descartada por meio de ensaios baseados em PCR e de métodos de detecção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não haja contaminação por bactérias, fungos ou leveduras, as culturas celulares são submetidas a inspeções visuais diárias.