

Клетки HS-695T | 300211

Обща информация

Description

Клетъчната линия HS-695T е получена от човешки меланом - вид рак на кожата, който се характеризира със злокачествена трансформация на меланоцитите. Тези клетки първоначално са получени от възрастен пациент и оттогава са широко използвани в изследвания, насочени към биологията на меланома, туморогенезата и метастазирането на рака. Клетъчната линия HS-695T проявява ключови характеристики на меланома, включително способността да се размножава бързо и да образува тумори при трансплантация в имунокомпрометирани мишки. Тази клетъчна линия запазва много от молекулярните и генетичните характеристики на оригиналния тумор, което я прави ценен модел за изучаване на основните механизми на прогресия на меланома и за тестване на потенциални терапевтични агенти.

Клетките HS-695T експресират различни маркери, свързани с меланома, включително Melan-A, тирозиназа и HMB-45, които обикновено се използват за идентифициране и изследване на меланоцитни тумори. За тези клетки е известно също, че имат мутации в гени като BRAF и NRAS, които често се наблюдават при меланома и допринасят за онкогенните сигнални пътища, определящи растежа и оцеляването на тумора. Изследователите използват клетъчната линия HS-695T, за да проучат ефектите на целеви терапии, включително инхибитори на BRAF и MEK, и да изследват развитието на резистентност към тези лечения. Като цяло клетъчната линия HS-695T е важен инструмент в изследванията на меланома, който помага за откриването на нови терапевтични стратегии и подобрява разбирането ни за този агресивен рак.

Organism Човек

Tissue Кожа

Disease Амеланотичен меланом

Metastatic site Лимфен възел

Synonyms Hs 695.T, Hs-695-T, Hs 695T, HS 695T, Hs695T, HS695T, Hs695

Характеристики

Age 26 години

Gender Мъжки

Ethnicity Кавказки

Morphology Подобни на епител

Клетки HS-695T | 300211

Growth properties Придържачи се

Регулаторни данни

Citation HS-695T (каталожен номер 300211 на Cytion)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0851

Биомолекулярни данни

Protein expression P53 положителен

Isoenzymes G6PD, B, PGM1, 1, PGM3, 1, ES-D, 1, Me-2, 0, AK-1, 1, GLO-1, 1, Фенотип Честота на продукта: 0.0427

Tumorigenic Да, при имunosупресирани мишки

Mutational profile BRAF V600Emut

Karyotype (P19-40) режим = 52, наличие на Y хромозома

Работа с

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L глюкоза, w: 4 mM L-глутамин, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM натриев пируват (номер на изделието на Cytion 820300a)

Supplements Допълнете средата с 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Клетки HS-695T | 300211

Subculturing Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.

Seeding density 2×10^4 клетки/cm²

Fluid renewal 2 до 3 пъти седмично

Post-Thaw Recovery След размразяване, поставете клетките в плаки с плътност 5×10^4 клетки/cm² и оставете клетките да се възстановят от процеса на замразяване и да се прикрепят за най-малко 24 часа.

Freeze medium Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки HS-695T | 300211

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антиминобен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

За оптимално прикрепване и жизнеспособност след размразяване препоръчваме да се използват **колби или плаки с колагеново покритие**.

Freezing Procedure

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки HS-695T | 300211

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196°C . Съхранението при -80°C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.