

Ogniwa HS-695T | 300211

Informacje ogólne

Description

Linia komórkowa HS-695T pochodzi od ludzkiego czerniaka, rodzaju raka skóry charakteryzującego się złośliwą transformacją melanocytów. Komórki te zostały pierwotnie uzyskane od dorosłego pacjenta i od tego czasu były szeroko wykorzystywane w badaniach nad biologią czerniaka, nowotworzeniem i przerzutami raka. Linia komórkowa HS-695T wykazuje kluczowe cechy czerniaka, w tym zdolność do szybkiej proliferacji i tworzenia guzów po przeszczepieniu do myszy z obniżoną odpornością. Ta linia komórkowa zachowuje wiele cech molekularnych i genetycznych pierwotnego guza, co czyni ją cennym modelem do badania podstawowych mechanizmów progresji czerniaka i testowania potencjalnych środków terapeutycznych.

Komórki HS-695T wykazują ekspresję różnych markerów związanych z czerniakiem, w tym Melan-A, tyrozynazy i HMB-45, które są powszechnie stosowane do identyfikacji i badania guzów melanocytowych. Wiadomo również, że komórki te mają mutacje w genach takich jak BRAF i NRAS, które są często obserwowane w czerniaku i przyczyniają się do onkogennych szlaków sygnałowych napędzających wzrost i przeżycie guza. Naukowcy wykorzystują linię komórkową HS-695T do badania efektów terapii celowanych, w tym inhibitorów BRAF i MEK, oraz do badania rozwoju oporności na te terapie. Ogólnie rzecz biorąc, linia komórkowa HS-695T jest kluczowym narzędziem w badaniach nad czerniakiem, pomagając w odkrywaniu nowych strategii terapeutycznych i poprawiając nasze zrozumienie tego agresywnego nowotworu.

Organism

Człowiek

Tissue

Skóra

Disease

Czerniak amelanotyczny

Metastatic site

Węzeł chłonny

Synonyms

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

Charakterystyka

Age

26 lat

Gender

Męczyzna

Ethnicity

Kaukaski

Morphology

Podobny do nabłonka

Growth properties

Adherent

Ogniwa HS-695T | 300211

Dane regulacyjne

Citation	HS-695T (numer katalogowy Cytion 300211)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0851
Depositor	R. B. Owens

Dane biomolekularne

Protein expression	P53 dodatni
Isoenzymes	G6PD, B, PGM1, 1, PGM3, 1, ES-D, 1, Me-2, 0, AK-1, 1, GLO-1, 1, Fenotyp Częstość Produkt: 0.0427
Tumorigenic	Tak, u myszy z obniżoną odpornością
Mutational profile	BRAF V600Emut
Karyotype	(P19-40) tryb = 52, obecny chromosom Y

Obsługa

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukozy, w: 4 mM L-glutaminy, w: 3,7 g/l NaHCO ₃ , w: 1,0 mM pirogronianu sodu (numer artykułu Cytion 820300a)
Supplements	Uzupełnić podłoże 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase

Subculturing Usun starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.

Ogniwa HS-695T | 300211**Split ratio** Zalecany jest stosunek 1:2 do 1:4**Seeding density** 2×10^4 komórek/cm²**Fluid renewal** 2 do 3 razy w tygodniu**Post-Thaw Recovery** Po rozmrożeniu umieść komórki na płytce w ilości 5×10^4 komórek/cm² i pozostaw je na co najmniej 24 godziny, aby mogły się zregenerować po procesie zamrażania i przylgnąć do podłoża.**Freeze medium** Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.**Thawing and
Culturing Cells**

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C, aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością 300 x g przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Ogniwa HS-695T | 300211

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, nawilżona atmosfera.

Flask Coating

W celu zapewnienia optymalnego przylegania i żywotności po rozmrożeniu zalecamy stosowanie **kolb lub płytek pokrytych kolagenem**.

Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

Ogniwa HS-695T | 300211

Profil STR

Amelogenin: x,y

CSF1PO: 11

D13S317: 12

D16S539: 9,13

D5S818: 9

D7S820: 9,10

TH01: 6

TPOX: 8

vWA: 18

D3S1358: 15

D21S11: 29

D18S51: 18

Penta E: 5,11

Penta D: 9,12

D8S1179: 13,15

FGA: 21,24

PEZ6: HK EGFP-H2B