

**Buňky HS-695T | 300211****Obecné informace****Description**

Buněčná linie HS-695T je odvozena od lidského melanomu, což je typ rakoviny kůže, který se vyznačuje maligní transformací melanocytů. Tyto buňky byly původně získány od dospělého pacienta a od té doby jsou hojně využívány ve výzkumu zaměřeném na biologii melanomu, tumorigenezi a metastazování rakoviny. Buněčná linie HS-695T vykazuje klíčové vlastnosti melanomu, včetně schopnosti rychle se množit a vytvářet nádory při transplantaci do imunokompromitovaných myší. Tato buněčná linie si zachovává mnoho molekulárních a genetických vlastností původního nádoru, což z ní činí cenný model pro studium základních mechanismů progresu melanomu a pro testování potenciálních terapeutických látek.

Buňky HS-695T exprimují různé markery spojené s melanomem, včetně Melan-A, tyrosinázy a HMB-45, které se běžně používají k identifikaci a studiu melanocytárních nádorů. Tyto buňky jsou také známy mutacemi v genech, jako jsou BRAF a NRAS, které se často vyskytují u melanomu a přispívají k onkogenním signálním drahám řídícím růst a přežití nádoru. Vědci používají buněčnou linii HS-695T ke zkoumání účinků cílených terapií, včetně inhibitorů BRAF a MEK, a ke zkoumání vývoje rezistence na tyto léčby. Celkově je buněčná linie HS-695T důležitým nástrojem ve výzkumu melanomu, který pomáhá při objevování nových léčebných strategií a zlepšuje naše chápání tohoto agresivního nádorového onemocnění.

**Organism** Člověk**Tissue** Kůže**Disease** Amelanotický melanom**Metastatic site** Lymfatická uzlina**Synonyms** Hs 695.T, Hs-695-T, Hs 695T, HS 695T, Hs695T, HS695T, Hs695**Charakteristika****Age** 26 let**Gender** Muži**Ethnicity** Kavkazský**Morphology** Epitelu podobné**Growth properties** Adherentní**Regulační údaje**

**Buňky HS-695T | 300211**

<b>Citation</b>	HS-695T (katalogové číslo Cytion 300211)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_0851
<b>Depositor</b>	R. B. Owens

**Biomolekulární data**

<b>Protein expression</b>	P53 pozitivní
<b>Isoenzymes</b>	G6PD, B, PGM1, 1, PGM3, 1, ES-D, 1, Me-2, 0, AK-1, 1, GLO-1, 1, Fenotyp Frekvence produktu: 0.0427
<b>Tumorigenic</b>	Ano, u imunosuprimovaných myší
<b>Mutational profile</b>	BRAF V600Emut
<b>Karyotype</b>	(P19-40) mód = 52, chromozom Y přítomen

**Zpracování**

<b>Culture Medium</b>	DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutaminu, w: 3,7 g/l NaHCO <sub>3</sub> , w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)
<b>Supplements</b>	Doplňte médium o 10% FBS
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Subculturing</b>	Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpusťte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.
<b>Split ratio</b>	Doporučuje se poměr 1:2 až 1:4

**Buňky HS-695T | 300211****Seeding density** 2 x 10<sup>4</sup> buněk/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal** 2 až 3krát týdně**Post-Thaw Recovery** Po rozmrazení naneste buňky v množství 5 x 10<sup>4</sup> buněk/cm<sup>2</sup> a nechte je alespoň 24 hodin zotavit se z procesu zmrazení a přilnout.**Freeze medium** Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.**Thawing and Culturing Cells**

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkušavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředíte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

**Incubation Atmosphere** 37 °C, 5 % CO<sub>2</sub>, zvlhčená atmosféra.

**Buňky HS-695T | 300211****Flask Coating**      Žádný**Freezing Procedure**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

**Shipping Conditions**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

**Storage Conditions**

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

**Kontrola kvality / Genetický profil / HLA****Sterility**

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuální kontrolám.

**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