

HNO210 rakud | 300134

Üldine teave

Description

HNO210 rakuliin on saadud laryngeaalsest lamerakk-kartsinoomist, mis on pea ja kaela lamerakk-kartsinoomi (HNSCC) alatüüp. Seda rakuliini on põhjalikult iseloomustatud geneetiliste ja molekulaarsete omaduste poolest, mis muudab selle väärtuslikuks mudeliks HNSCC patogeneesi ja ravivastuste uurimiseks. HNO210 kromosoomide võrdleva genoomilise hübriidimise (cCGH) analüüs on paljastanud mitu olulist kromosoomiaberratsiooni. Nimelt esineb DNA koopiaarvu suurenemine kromosoomi piirkondades 3q, 7p, 7q, 9p, 9q, 20p ja 20q ning koopiaarvu vähenemine kromosoomi 3p, 4p, 4q ja kromosoomi 21 puhul. Need geneetilised muutused on HNSCC puhul tavalised ja neid seostatakse agressiivse kasvajakäitumise ja patsiendi halva prognoosiga.

Eelkõige pakub huvi selliste piirkondade nagu 3q ja 11q13 amplifikatsioon, mida esineb paljudes HNSCC rakuliinides, kuna see on seotud selliste onkogeenide nagu CCND1 (tsükliin D1) ja CTTN (kortaktiin) suurenenud ekspressiooniga. Need geenid on seotud vastavalt rakutsükli regulatsiooniga ja tsütoskeleti organiseerimisega ning nende üleekspressioon võib aidata kaasa rakkude suurenenud proliferatsioonile, invasiivsusele ja metastaasile. HNO210 rakuliin on oma eripärase geneetilise profiiliga usaldusväärne mudel, mille abil saab uurida kõhunäärmevähi progresseerumise aluseks olevaid molekulaarseid mehhanisme ja katsetada sihipäraseid ravimeetodeid, mis on suunatud nendele konkreetsetele geneetilistele kõrvalekalletele.

Lisaks on see rakuliin osa paneelist, mida kasutatakse kombineeritud ravi tõhususe uurimiseks, näiteks tsisplatiini ja talidomiidi kasutamine, mis on osutunud paljulubavaks kasvajakasvatuse toime suurendamisel in vitro ja in vivo. Seetõttu on HNO210 oluline mitte ainult vähi alusuuringute, vaid ka translatsiooniliste uuringute jaoks, mille eesmärk on parandada HNSCC-patsientide ravitulemusi.

Organism Inimene

Tissue Larynks

Disease Pea ja kaela lamerakk-kartsinoom (HNSCC)

Omadused

Age 69 aastat

Gender Mees

Ethnicity Kaukaasia

Morphology Epiteelilaadsed

Growth properties Monokihiline, kleepuv

Regulatiivsed andmed

HNO210 rakud | 300134**Citation** HNO210 (Cytioni katalooginumber 300134)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_D215**Biomolekulaarsed andmed****Töötlemine****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glükoosi, w: 4 mM L-glutamiini, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM naatriumpüruvaati (Cytioni artikli number 820300a)**Supplements** Täiendada söötme 10% FBS-ga**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Eemaldage kleepunud rakkudel vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.**Fluid renewal** 2 kuni 3 korda nädalas**Freeze medium** Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

HNO210 rakud | 300134

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Optimaalse kinnitumise ja elujõulisuse tagamiseks pärast sulatamist soovitame kasutada **kollageeniga kaetud koldeid või plaate**.

Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

HNO210 rakud | 300134

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.

HLA alleles

A*: '02:01:01, '02:05:01

B*: '35:01:01, '58:01:01

C*: '04:01:01, '07:18:01

DRB1*: '01:02:01

DQA1*: '01:01:02

DQB1*: '05:01:01

DPB1*: '04:01:01

E: '01:01, '01:03