

HNO258 rakud | 300146

Üldine teave

Description

HNO258 rakuliin on saadud suuõõne lamerakk-kartsinoomist, mis on pea ja kaela lamerakk-kartsinoomi (HNSCC) alatüüp. Sellel rakuliinil on mitmeid kromosoomianomaaliaid, mis on tuvastatud kromosoomide võrdleva genoomilise hübriidimise (cCGH) abil. Konkreetselt on HNO258-l täheldatud DNA koopiaarvu suurenemist kromosoomi piirkondades 1q41, 3q21-qter, 7p, 7cen-q21, 8q22-qter, 9cen-p13, 9q31-qter, 11q13, 15p ja 15q. Lisaks sellele esineb koopiate arvu vähenemine piirkondades 4p ja 18q12-qter. Need geneetilised muutused on HNSCC puhul tavalised ja on seotud kasvajate tekke ja vähi progresseerumisega.

HNO258 puhul täheldatud 11q13 amplifikatsioon on eriti tähelepanuväärne, kuna see on seotud selliste onkogeenide nagu CCND1 (tsükliin D1) ja CTTN (koraktiin) üleekspressiooniga, mis on seotud vastavalt rakutsükli regulatsiooniga ja tsütoskeleti organiseerimisega. Need onkogeenid on sageli seotud vähirakkude agressiivse käitumisega, aidates kaasa suurenenud proliferatsioonile ja invasiivsusele. HNO258 üksikasjalik geneetiline iseloomustus muudab selle väärtuslikuks mudeliks suuõõne platinakartsinoomi aluseks olevate molekulaarsete mehhanismide uurimiseks ja nende spetsiifiliste geneetiliste muutuste vastu suunatud võimalike ravistrateegiade hindamiseks.

Organism Inimene

Tissue Suuõõs

Disease Pea ja kaela lamerakk-kartsinoom (HNSCC)

Omadused

Age 62 aastat

Gender Mees

Ethnicity Kaukaasia

Morphology Epiteelilaadsed

Growth properties Monokihiline, kleepuv

Regulatiivsed andmed

Citation HNO258 (Cytioni katalooginumber 300146)

Biosafety level 1

HNO258 rakud | 300146**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_D221**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 rakkudelt 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 katalooginumbriga 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

HNO258 rakud | 300146

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 x 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.

HNO258 rakud | 300146

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*: '01:01:01, '25:01:01

B*: '07:02:01, '18:01:01

C*: '07:02:01, '12:03:01

DRB1*: '14:54:01, '15:01:01

DQA1*: '01:02:01, '01:04:01

DQB1*: '05:03:01, '06:02:01

DPB1*: '02:01:02G, '04:02:01G

E: '01:01:01