

HNO210 Solut | 300134**Yleisiä tietoja****Description**

HNO210-solulinja on peräisin kurkunpään levyepiteelisolusyövistä, joka on pään ja kaulan levyepiteelisolusyövän (HNSCC) alatyyppejä. Tämä solulinja on laajalti karakterisoitu geneettisten ja molekulaaristen ominaisuuksiensa osalta, mikä tekee siitä arvokkaan mallin HNSCC:n patogeneesin ja hoitovasteiden tutkimiseen. HNO210:n kromosomaalinen vertaileva genomihybridisaatioanalyysi (CGH) on paljastanut useita merkittäviä kromosomipoikkeavuuksia. Siinä on erityisesti DNA:n kopiokumäärän lisäyksiä kromosomialueilla 3q, 7p, 7q, 9p, 9q, 20p ja 20q sekä kopiokumäärän menetyksiä alueilla 3p, 4p, 4q ja kromosomissa 21. Nämä geneettiset muutokset ovat yleisiä HNSCC:ssä, ja ne liittyvät aggressiiviseen kasvaintäytymiseen ja potilaiden huonoon ennusteeseen.

Erityisesti 3q:n ja 11q13:n kaltaisten alueiden monistuminen, jota esiintyy monissa HNSCC-solulinjoissa, on kiinnostavaa, koska se korreloi sellaisten onkogeneenien kuten CCND1:n (sykliini D1) ja CTTN:n (kortaktiini) lisääntyneen ilmentymisen kanssa. Nämä geenit osallistuvat solusyklin säätelyyn ja sytoskelettijärjestäytymiseen, ja niiden yliekspressio voi edistää solujen lisääntymistä, invaasiota ja metastaasia. HNO210-solulinja, jolla on erilainen geneettinen profiili, toimii vankkana mallina kurkunpään syövän etenemisen taustalla olevien molekyylimekanismien tutkimiseen ja sellaisten kohdennettujen hoitojen testaamiseen, jotka kohdistuvat näihin erityisiin geneettisiin poikkeavuuksiin.

Lisäksi tämä solulinja on osa paneelia, jota käytetään yhdistelmähoitojen, kuten sislplatiinin ja talidomidin käytön, tehokkuuden tutkimiseen, sillä ne ovat osoittautuneet lupaaviksi kasvaimen vastaisen aktiivisuuden tehostamisessa in vitro ja in vivo. Tämän vuoksi HNO210 on ratkaisevan tärkeä paitsi syövän perustutkimuksessa myös translaatiotutkimuksissa, joilla pyritään parantamaan HNSCC-potilaiden hoitotuloksia.

Organism Ihminen**Tissue** Kurkunpää**Disease** Pään ja kaulan levyepiteelisyöpä (HNSCC)**Ominaisuudet****Age** 69 vuotta**Gender** Mies**Ethnicity** Kaukasialainen**Morphology** Epiteelin kaltainen**Growth properties** Yksikerroksinen, tarttuva

HNO210 Solut | 300134**Säätelytiedot**

Citation	HNO210 (Cytionin luettelonumero 300134)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_D215

Biomolekyyli tiedot**Käsittely**

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukoosia, w: 4 mM L-glutamiinia, w: 3,7 g/l NaHCO ₃ , w: 1,0 mM natriumpyruvaattia (Cytionin artikkelinumero 820300a)
Supplements	Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.
Fluid renewal	2-3 kertaa viikossa
Freeze medium	Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

HNO210 Solut | 300134

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Optimaalisen kiinnittymisen ja elinkelpoisuuden saavuttamiseksi sulatuksen jälkeen suosittelemme **kollageenipinnoitettujen pullojen tai levyjen** käyttöä.

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

HNO210 Solut | 300134

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Storage Conditions

Pitkäaikaisäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility

Mykoplasmaakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.

HLA-alleelit

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