

## HS-695T-kennot | 300211

## Yleisiä tietoja

## Description

HS-695T-solulinja on peräisin ihmisen melanoomasta, joka on ihosyöpätyyppi, jolle on ominaista melanosyyttien pahanlaatuinen muutos. Nämä solut saatiin alun perin aikuispotilaalta, ja niitä on sittemmin hyödynnetty laajasti melanooman biologiaan, kasvainten syntyyn ja syövän etäpesäkkeisiin keskittyvässä tutkimuksessa. HS-695T-solulinjalla on melanooman keskeisiä ominaisuuksia, kuten kyky lisääntyä nopeasti ja muodostaa kasvaimia, kun se siirretään immuunipuutteisiin hiiriin. Tämä solulinja säilyttää monia alkuperäisen kasvaimen molekyyli- ja geneettisiä ominaisuuksia, mikä tekee siitä arvokkaan mallin melanooman etenemisen taustalla olevien mekanismien tutkimiseen ja mahdollisten terapeuttisten aineiden testaamiseen.

HS-695T-solut ilmentävät erilaisia melanoomaan liittyviä merkkiaineita, kuten Melan-A:ta, tyrosinaasia ja HMB-45:tä, joita käytetään yleisesti melanosyyttisten kasvainten tunnistamiseen ja tutkimiseen. Näillä soluilla tiedetään myös olevan mutaatioita sellaisissa geneeissä kuin BRAF ja NRAS, joita havaitaan usein melanoomissa ja jotka vaikuttavat onkogeneisiin signaalireitteihin, jotka ohjaavat kasvaimen kasvua ja selviytymistä. Tutkijat käyttävät HS-695T-solulinjaa tutkittaessa kohdennettujen hoitojen, kuten BRAF- ja MEK-estäjien, vaikutuksia ja tutkittaessa resistenssin kehittymistä näitä hoitoja vastaan. Kaiken kaikkiaan HS-695T-solulinja on kriittinen väline melanoomatutkimuksessa, sillä se auttaa uusien hoitostrategioiden löytämisessä ja parantaa ymmärrystämme tästä aggressiivisesta syövästä.

**Organism** Ihminen

**Tissue** Iho

**Disease** Amelanoottinen melanooma

**Metastatic site** Imusolmuke

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

## Ominaisuudet

**Age** 26 vuotta

**Gender** Mies

**Ethnicity** Kaukasialainen

**Morphology** Epiteelin kaltainen

**Growth properties** Tarttuva

## HS-695T-kennot | 300211

## Säätelytiedot

<b>Citation</b>	HS-695T (Cytionin luettelonumero 300211)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_0851

## Biomolekyyli tiedot

<b>Protein expression</b>	P53-positiivinen
<b>Isoenzymes</b>	G6PD, B, PGM1, 1, PGM3, 1, ES-D, 1, Me-2, 0, AK-1, 1, GLO-1, 1, Fenotyypin frekvenssituote: 0.0427
<b>Tumorigenic</b>	Kyllä, immunosuppressoituneissa hiirissä
<b>Mutational profile</b>	BRAF V600Emut
<b>Karyotype</b>	(P19-40) moodi = 52, Y-kromosomi läsnä

## Käsittely

<b>Culture Medium</b>	DMEM, w: 4,5 g/l glukoosia, w: 4 mM L-glutamiinia, w: 3,7 g/l NaHCO <sub>3</sub> , w: 1,0 mM natriumpyruvaattia (Cytionin artikkelinumero 820300a)
<b>Supplements</b>	Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä
<b>Dissociation Reagent</b>	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.

## HS-695T-kennot | 300211

**Seeding density**  $2 \times 10^4$  solua/cm<sup>2</sup>

**Fluid renewal** 2-3 kertaa viikossa

**Post-Thaw Recovery** Sulattamisen jälkeen levitä solut  $5 \times 10^4$  solua/cm<sup>2</sup> ja anna solujen toipua pakastusprosessista ja kiinnittyä vähintään 24 tunnin ajan.

**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 osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetytynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa 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 jäästä 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<sub>2</sub>, kostutettu ilmakehä.

## HS-695T-kennot | 300211

**Flask Coating** Ei mitään

**Freezing Procedure**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäissä 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.

**Shipping Conditions**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäissä 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**

Pitkäaikaissäilytystä 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**

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

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