

H9-solut (HuT 78:n johdannainen) | 300460**Yleisiä tietoja****Description**

H9-solulinjalla, joka on peräisin Sezaryn oireyhtymää sairastavan aikuispotilaan HUT 78 T-solulinjan klonaalista johdannaisesta, on erityisiä kliinisiä ominaisuuksia, jotka tekevät siitä erittäin merkityksellisen HIV-tutkimuksessa. Se sallii HIV-1:n lisääntymisen, mikä helpottaa HIV-1:n eristämistä ja lisääntymistä aids-potilaiden ja aidsia edeltävien potilaiden verestä. Tämä ominaisuus korostaa sen hyödyllisyyttä viruksen käyttäytymisen tutkimisessa ja viruslääkkeiden testaamisessa erilaisissa kliinisissä tilanteissa.

Karyotyypillisesti H9 on lähes triploidi, ja sen modaalin kromosomiluku on 69, joka vaihtelee 58:sta 74:ään, ja siinä esiintyy 2,5 prosentin taajuudella korkeampia ploideja. Solulinjan karyotyyppi on erittäin monimutkainen, sillä lähes 60 prosenttia kromosomeista solua kohti koostuu rakenteellisesti muuttuneista merkkikromosomeista, kuten translokaatioista, kuten t(3p4q), t(5q6q), t(5p6p), ja deletioista, kuten del(7)(q32). Tällaiset kromosomipoikkeavuudet vaikuttavat osaltaan linjan ainutlaatuihin geneettisiin profiiliin, joka vaikuttaa sen käyttäytymiseen ja vasteeseen virusinfektioille. Normaaliin kromosomien N4, N5, N6, N7, N10, N13, N18, N19, N20 ja X puuttuminen erottaa sen geneettisen rakenteen entisestään.

Lisäksi H9-solulinja on luonteeltaan tumorigeeninen, mikä on osoitettu onnistuneella ihonalaisella kasvaimen muodostumisella alastomilla hiirillä, kun niihin on istutettu 10(7) solua. Se ilmentää useita antigeenejä, kuten CD4- ja erilaisia ihmisen leukosyyttiantigeenejä (HLA), kuten A1, B62, C3, DR4 ja DQ3, joilla on ratkaiseva rooli immuunijärjestelmän tunnistamisessa ja vasteessa. Sen alttius HIV-1:lle ja interleukiini-2:n (IL-2) kaltaisten geenien ilmentyminen ovat keskeisiä immuunivasteiden ja virusvuorovaikutusten tutkimisessa, mikä tekee H9:stä elintärkeän välineen immunologisen ja virologisen tutkimuksen maisemassa.

Organism Ihminen**Tissue** Veri**Disease** Sezaryn oireyhtymä (ihon T-solulymfooman aggressiivinen muoto)**Metastatic site** Perifeerinen veri**Synonyms** HT-klooni H9, HT(H9), H9, H-9, H-9**Ominaisuudet****Age** 53 vuotta**Gender** Mies**Ethnicity** Eurooppalainen**Morphology** Lymfoblastit

H9-solut (HuT 78:n johdannainen) | 300460**Cell type** T-solu**Growth properties** Jousitus**Säätelytiedot****Citation** H9 (HuT 78:n johdannainen) (Cytionin luettelonumero 300460)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1240**Biomolekyyli tiedot****Receptors expressed** CD4+**Protein expression** Interleukiini 2 (IL-2)**Isoenzymes** AK-1, 0, ES-D, 1, G6PD, B, GLO-I, 1, Me-2, 0, PGM1, 1, PGM3, 0**Virus susceptibility** HIV-1 (HTLV-III)**Käsittely****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilia glutamiinia, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytionin artikkelinumero 820700a)**Supplements** Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä**Subculturing** Homogenoi solususpensio varovasti pullossa pipetoimalla ylös ja alas, ota sitten edustava näyte solutiheyden määrittämiseksi millilitraa kohti. Laimenna suspensio tuoreella viljelyalustalla solupitoisuudeksi 1×10^5 solua/ml ja jaa säädetty suspensio uusiin pulloihin jatkokäsittelyä varten.

H9-solut (HuT 78:n johdannainen) | 300460**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.

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se $37\text{ }^{\circ}\text{C}$: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

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Ei mitään

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

H9-solut (HuT 78:n johdannainen) | 300460

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä 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 määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

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