

HNO258 Solut | 300146**Yleisiä tietoja****Description**

HNO258-solulinja on peräisin suun levyepiteelisolusyövästä, joka on pään ja kaulan levyepiteelisolusyövän (HNSCC) alatyyppejä. Tällä solulinjalla on useita kromosomipoikkeavuuksia, jotka on tunnistettu kromosomien vertailevan genomihybridisaation (CGH) avulla. Erityisesti HNO258:ssa on havaittu DNA:n kopiolumäärän kasvua kromosomialueilla 1q41, 3q21-qter, 7p, 7cen-q21, 8q22-qter, 9cen-p13, 9q31-qter, 11q13, 15p ja 15q. Lisäksi siinä esiintyy kopiolumääriä alueilla 4p ja 18q12-qter. Nämä geneettiset muutokset ovat yleisiä HNSCC:ssä, ja ne liittyvät tuumorigeneesiin ja syövän etenemiseen.

HNO258:ssa havaittu 11q13:n monistuminen on erityisen huomionarvoinen, koska se liittyy sellaisten onkogeeneiden yliekspressioon kuin CCND1 (sykliini D1) ja CTTN (kortactiini), jotka osallistuvat solusyklin säätelyyn ja sytoskeletonin organisointiin. Nämä onkogeeneit ovat usein osallisina syöpäsolujen aggressiivisessa käyttäytymisessä, sillä ne edistävät lisääntynyttä proliferaatiota ja invasiivisuutta. HNO258:n yksityiskohtainen geneettinen karakterisointi tekee siitä arvokkaan mallin suun levyepiteelisolusyövän taustalla olevien molekyylimekanismien tutkimiseen ja sellaisten mahdollisten hoitostrategioiden arviointiin, jotka kohdistuvat näihin erityisiin geneettisiin muutoksiin.

Organism Ihminen**Tissue** Suuontelo**Disease** Pään ja kaulan levyepiteelisyöpä (HNSCC)**Ominaisuudet****Age** 62 vuotta**Gender** Mies**Ethnicity** Kaukasialainen**Morphology** Epiteelin kaltainen**Growth properties** Yksikerroksinen, tarttuva**Säätelytiedot****Citation** HNO258 (Cytionin luettelonumero 300146)**Biosafety level** 1

HNO258 Solut | 300146**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_D221**Biomolekyylitiedot****Käsittely****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukoosia, w: 4 mM L-glutamiinia, w: 3,7 g/l NaHCO₃, 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 osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

HNO258 Solut | 300146

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 $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$: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 $300 \times g$: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 kuivajäädessä 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.

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä 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.

HNO258 Solut | 300146

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 määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

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

HLA-alleelit

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