

## HNO258 ląstelės | 300146

## Bendra informacija

## Description

HNO258 ląstelių linija išvesta iš burnos plokščialąstelinės karcinomos, kuri yra galvos ir kaklo plokščialąstelinės karcinomos (HNSCC) potipis. Šiai ląstelių linijai būdingos kelios chromosominės anomalijos, kurios buvo nustatytos chromosominės lyginamosios genominės hibridizacijos (cCGH) metodu. Konkrečiai, HNO258 chromosominėse srityse 1q41, 3q21-qter, 7p, 7cen-q21, 8q22-qter, 9cen-p13, 9q31-qter, 11q13, 15p ir 15q padidėjo DNR kopijų skaičius. Be to, kopijų skaičius sumažėjo 4p ir 18q12-qter srityse. Šie genetiniai pakitimai būdingi HNSCC ir yra susiję su naviko geneze bei vėžio progresavimu.

HNO258 pastebėtas 11q13 amplifikavimas ypač vertas dėmesio dėl to, kad jis susijęs su pernelyg didele onkogenų, tokių kaip CCND1 (ciklinas D1) ir CTTN (kortaktinas), kurie dalyvauja ląstelių ciklo reguliavime ir citoskeleto organizavime, ekspresija. Šie onkogenai dažnai susiję su agresyviu vėžinių ląstelių elgesiu, prisideda prie padidėjusio dauginimosi ir invazyvumo. Dėl išsamaus genetinio HNO258 apibūdinimo jis yra vertingas modelis, kuriuo galima tirti molekulinis mechanizmus, lemiančius burnos plokščialąstelinę karcinomą, ir vertinti galimas gydymo strategijas, nukreiptas į šiuos specifinius genetinius pokyčius.

**Organism** Žmogus

**Tissue** Burnos ertmė

**Disease** Galvos ir kaklo plokščialąstelinė karcinoma (HNSCC)

## Charakteristikos

**Age** 62 metai

**Gender** Vyras

**Ethnicity** Kaukaziečių

**Morphology** Į epitelį panašus

**Growth properties** Viensluoksnis, prigludęs

## Reguliavimo duomenys

**Citation** HNO258 (Cytion katalogo numeris 300146)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**HNO258 ląstelės | 300146**

CellosaurusAccession CVCL\_D221

**Biomolekuliniai duomenys****Tvarkymas**

**Culture Medium** DMEM, š: 4,5 g/l gliukozės, š: 4 mM L-glutamino, š: 3,7 g/l NaHCO<sub>3</sub>, š: 1,0 mM natrio piruvato (Cytion gaminio numeris 820300a)

**Supplements** Papildykite terpę 10 % FBS

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkeltite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.

**Fluid renewal** 2-3 kartus per savaitę

**Freeze medium** Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

## HNO258 ląstelės | 300146

### Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei  $-150^{\circ}\text{C}$  temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į  $37^{\circ}\text{C}$  temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , drėkintoje atmosferoje.

### Flask Coating

Kad po atšildymo būtų užtikrintas optimalus prisitvirtinimas ir gyvybingumas, rekomenduojame naudoti **kolagenu dengtas kolbas arba plokšteles**.

### Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug  $-78^{\circ}\text{C}$  temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

## HNO258 ląstelės | 300146

### Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

### Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystą azotą.

## Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

### Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.

### HLA aleliai

**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