

## HNO258 šūnas | 300146

## Vispārīga informācija

## Description

HNO258 šūnu līnija ir iegūta no mutes dobuma plakanšūnu karcinomas, kas ir galvas un kakla plakanšūnu karcinomas (HNSCC) apakštips. Šai šūnu līnijai ir vairākas hromosomu anomālijas, kas ir identificētas, izmantojot hromosomu salīdzinošo genomu hibridizāciju (cCGH). Konkrēti, HNO258 ir konstatēts DNS kopiju skaita pieaugums hromosomu apgabalos 1q41, 3q21-qter, 7p, 7cen-q21, 8q22-qter, 9cen-p13, 9q31-qter, 11q13, 15p un 15q. Turklāt tai ir kopiju skaita zudumi 4p un 18q12-qter reģionos. Šīs ģenētiskās izmaiņas ir bieži sastopamas HNSCC, un tās ir saistītas ar audzēja rašanos un vēža progresēšanu.

HNO258 novērotā 11q13 amplifikācija ir īpaši ievērojama, jo tā ir saistīta ar tādu onkogēnu kā CCND1 (ciklīna D1) un CTTN (kortaktīna), kas ir iesaistīti attiecīgi šūnu cikla regulācijā un citoskeleta organizācijā, pārmērīgu ekspresiju. Šie onkogēni bieži ir saistīti ar vēža šūnu agresīvu uzvedību, veicinot palielinātu proliferāciju un invazivitāti. HNO258 detalizētā ģenētiskā raksturojuma dēļ tā ir vērtīgs modelis mutes dobuma plakanšūnu karcinomas pamatā esošo molekulāro mehānismu izpētei un potenciālo terapeitisko stratēģiju novērtēšanai, kas vērstas pret šīm specifiskajām ģenētiskajām izmaiņām.

**Organism** Cilvēks

**Tissue** Mutes dobums

**Disease** Galvas un kakla plakanšūnu karcinoma (HNSCC)

## Raksturojums

**Age** 62 gadi

**Gender** Vīrieši

**Ethnicity** Kaukāzietis

**Morphology** Epitēlijveidīgs

**Growth properties** Vienslāņa, adhēzija

## Normatīvie dati

**Citation** HNO258 (Cytion kataloga numurs 300146)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**HNO258 šūnas | 300146**

CellosaurusAccession CVCL\_D221

**Biomolekulārie dati****Darbs ar**

**Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glikozes, w: 4 mM L-glutamīna, w: 3,7 g/l NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM nātrija piruvāta (Cytion izstrādājuma numurs 820300a)

**Supplements** Papildināt barotni ar 10% FBS

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.

**Fluid renewal** 2 līdz 3 reizes nedēļā

**Freeze medium** Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

## HNO258 šūnas | 300146

### Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par  $-150^{\circ}\text{C}$ , lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to  $37^{\circ}\text{C}$  ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar  $300 \times g$  3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , mitrināta atmosfēra.

### Flask Coating

Optimālai piestiprināšanai un dzīvotspējai pēc atkausēšanas ieteicams izmantot **ar kolagēnu pārklātas kolbas vai plates**.

### Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni  $-78^{\circ}\text{C}$  temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

## HNO258 šūnas | 300146

### Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

### Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

## Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

### Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.

### HLA alēles

**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