

**Células HNO258 | 300146****Informações gerais****Description**

A linha celular HNO258 é derivada de um carcinoma oral de células escamosas, que é um subtipo de carcinoma de células escamosas da cabeça e do pescoço (HNSCC). Esta linha celular apresenta várias anomalias cromossômicas, que foram identificadas através da hibridação genômica comparativa cromossômica (cCGH). Especificamente, a HNO258 apresentou ganhos no número de cópias de ADN nas regiões cromossômicas 1q41, 3q21-qter, 7p, 7cen-q21, 8q22-qter, 9cen-p13, 9q31-qter, 11q13, 15p e 15q. Além disso, apresenta perdas de número de cópias nas regiões 4p e 18q12-qter. Estas alterações genéticas são comuns no CECP e estão associadas à tumorigênese e à progressão do cancro.

A amplificação do 11q13, observada no HNO258, é particularmente notável devido à sua associação com a sobre-expressão de oncogenes como o CCND1 (ciclina D1) e o CTTN (cortactina), que estão envolvidos na regulação do ciclo celular e na organização do citoesqueleto, respetivamente. Estes oncogenes estão frequentemente implicados no comportamento agressivo das células cancerígenas, contribuindo para o aumento da proliferação e da invasividade. A caracterização genética detalhada do HNO258 torna-o um modelo valioso para o estudo dos mecanismos moleculares subjacentes ao carcinoma espinocelular oral e para a avaliação de potenciais estratégias terapêuticas que visem estas alterações genéticas específicas.

**Organism** Humano**Tissue** Cavidade oral**Disease** Carcinoma espinocelular da cabeça e do pescoço (HNSCC)**Caraterísticas****Age** 62 anos**Gender** Masculino**Ethnicity** Caucasiano**Morphology** De tipo epitelial**Growth properties** Monocamada, aderente**Dados regulamentares****Citation** HNO258 (número de catálogo Cytion 300146)**Biosafety level** 1

**Células HNO258 | 300146****NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_D221**Dados biomoleculares****Manuseamento****Culture Medium** DMEM, com: 4,5 g/L de glucose, com: 4 mM de L-Glutamina, com: 3,7 g/L de NaHCO<sub>3</sub>, com: 1,0 mM de piruvato de sódio (número de artigo Cytion 820300a)**Supplements** Completar o meio com 10% de FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e, nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.**Fluid renewal** 2 a 3 vezes por semana**Freeze medium** Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

## Células HNO258 | 300146

### Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a  $-150^{\circ}\text{C}$  para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a  $37^{\circ}\text{C}$  com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a  $300 \times g$  durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , atmosfera humidificada.

### Flask Coating

Nenhum

### Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente  $-78^{\circ}\text{C}$  durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

## Células HNO258 | 300146

### Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

### Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

## Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

### Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.

### Alelos HLA

**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