Product sheet

Клетки HT55 | 305018

Обща информация

Description	HT55 е клетъчна линия на човешки ректален аденокарцином, получена от първичен ректален тумор на 54-годишна жена от кавказката раса. Линията расте като адхезивен монослой с епителиоподобна морфология и е регистрирана в Cellosaurus под номер CVCL_1294. HT55 носи множество хетерозиготни и хомозиготни мутации с загуба на функция в тумор-супресорния ген *APC* (аденоматозна полипоза на дебелото черво), включително p.Gln1131Ter, p.Gln1303Ter, p.Arg1463Ser, p.Asn581Tyr и p.Lys241Ter (всички хетерозиготни), както и хомозиготна субституция p.Arg213Leu. Този мутационен профил превръща HT55 в биологично релевантен модел на колоректална канцерогенеза, задвижвана от APC, отразяващ каноничната дисрегулация на WNT пътя, която стои в основата на по-голямата част от човешките колоректални ракови заболявания. HT55 се използва широко в изследванията на колоректалния рак за проучвания на WNT/β-катенин сигнализацията, тумор-супресорната функция на APC, чувствителността и резистентността към лекарства, както и за предклинична оценка на целеви агенти срещу компоненти на WNT пътя. Линията е подходяща за фармакологични тестове in vitro и проучвания с ксенографти в имунокомпрометирани миши модели, като осигурява прилепваща, лесна за работа in vitro платформа за механистични и транслационни изследвания на колоректалния рак. Наличието на множество мутации с тримбиране на APC прави HT55 представителна за микросателитно стабилния, хромозомно нестабилен подтип на колоректалния рак, който обикновено се дължи на загуба на функция на APC. HT55 се поддържа в EMEM (MEM Eagle, w: 2 mM L-глутамин, w: 2,2 g/L $NaHCO_3$, w: EBSS; артикулен номер на Cytion 820100a), допълнена с 10% FBS, при 37 °C във влажна атмосфера с 5% CO_2. Клетките се субкултивират с помощта на Accutase, когато достигнат приблизително 80–90% конфлуентност, с препоръчително съотношение на разделяне 1:3 до 1:5 и плътност на засяване 1–3 × 10^4 клетки/cm^2. Средата се подменя на всеки 2–3 дни. Времето за удвояване е приблизително 28 часа.
Organism	Човек
Tissue	Ректум
Disease	Аденокарцином
Applications	Изследвания в областта на колоректалния рак; проучвания на WNT/APC сигналния път; тестове за лекарствена чувствителност и резистентност; предклинична онкология; модели с ксенографти; оценка на целевата терапия
Synonyms	HT55

Характеристики

Age	54 години
Gender	Жена

Клетки HT55 | 305018

Ethnicity	Кавказки
Morphology	Подобни на епител
Cell type	Епителни клетки
Growth properties	Придържащи се

Регулаторни данни

Citation	HT55 (каталожен номер на Cytion 305018)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1294

Биомолекулярни данни

Mutational profile	Мутация: p.Gln1131Ter, хетерозиготна; Мутация: p.Gln1303Ter, хетерозиготна; Мутация: p.Arg1463Ser, хетерозиготна; Мутация: p.Asn581Tyr, хетерозиготна; Мутация: p.Lys241Ter, хетерозиготна; Мутация: p.Arg213Leu, хомозиготна

Работа с

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamine, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (номер на статията в Cytion 820100a)
Supplements	Допълнете средата с 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	28 часа

Клетки HT55 | 305018

Subculturing	Отстранете старата среда от прилепналите клетки и ги измийте с PBS без калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3–5 мл PBS, а за колби T75 – 5–10 мл. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1–2 мл за колби T25 и 2,5 мл за колби T75. Оставете клетките да инкубират при стайна температура в продължение на 8–10 минути, за да се отлепят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 мл среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300×g в продължение на 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в свежа среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат свежа среда.
Split ratio	от 1 до 5
Seeding density	1 до 3 x 10^4 клетки/cm^2
Fluid renewal	На всеки 2 до 3 дни
Freeze medium	Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки HT55 | 305018

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.

2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под -150 °C, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.

3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура 37 °C, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.

4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.

5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбъркате внимателно.

6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.

7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.

8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, овлажнена атмосфера.

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки HT55 | 305018

Storage Conditions	За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството и молекулярен анализ