

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. 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, предизвикана от *APC*, отразяващ дисрегулацията на каноничния WNT път, 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, туморсупресорната 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 изследвания с ксенографи в имунокомпрометирани миши модели, като осигурява адхезивна и лесна за работа *in vitro* платформа за механистични и транслационни изследвания на колоректалния рак. Наличието на множество мутации с отрязване на *APC* прави HT55 представителна за микросателитно стабилен, хромозомно нестабилен подтип на колоректалния рак, който обикновено се дължи на загуба на функцията на *APC*.

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 ксенографи; оценка на целевата терапия

Synonyms

HT55

Характеристики

Age

54 години

Gender

Жена

Ethnicity

Кавказки

Morphology

Подобни на епител

Cell type

Епителни клетки

Клетки HT55 | 305018

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**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

Клетки HT55 | 305018

Seeding density 1 до 3×10^4 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.

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 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 разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при $300 \times g$ 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% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Клетки HT55 | 305018

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед в утвърдени, изолирани опаковки 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.

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