

Клетки HCT-8 (HRT-18) | 300210

Обща информация

Description

Клетките HCT-8, известни също като клетки на човешки илеоцекален колоректален аденокарцином, са епителна клетъчна линия, първоначално получена от 67-годишен кавказки пациент с илеоцекален аденокарцином. Клетъчната линия HCT-8 е създадена в края на 60-те години на миналия век и е широко използвана в изследванията на рака, особено в проучването на патогенезата на колоректалния рак, метастазите и отговора на лечението.

Морфологично клетките на HCT-8 са епителноподобни и показват монослоен модел на растеж с полигонална форма. Те притежават способността да растат както в адхезивни, така и в полусуспендирани култури, което е характерно за някои преходни етапи на метастазиране на раковите клетки. Тази особеност ги прави особено полезни за изследвания, свързани с инвазията и миграцията на раковите клетки.

Генотипно клетките HCT-8 са хипертриплоидни и съдържат няколко хромозомни аберации, характерни за колоректалните карциноми, включително мутации и делеции, които са от значение за прогресията на рака и механизмите на резистентност. Този генетичен профил подкрепя използването им в онкологични изследвания, особено тези, които се фокусират върху генетичните пътища, участващи в туморогенезата и лекарствената резистентност.

Изследванията, в които са използвани клетки HCT-8, са допринесли значително за разбирането на биологията на колоректалния рак, включително за изясняване на молекулярните пътища, свързани с пролиферацията на раковите клетки, апоптозата и химиорезистентността. Клетъчната линия продължава да бъде изключително важен модел за изследване на ефикасността на нови терапевтични средства и за проучване на молекулярните механизми, лежащи в основата на колоректалния рак.

Organism Човек

Tissue Ректум

Disease Аденокарцином

Synonyms HCT 8, HCT8

Характеристики

Age 67 години

Gender Мъжки

Morphology Подобни на епител

Growth properties Придържачи се

Клетки HCT-8 (HRT-18) | 300210

Регулаторни данни

Citation	HCT-8 (каталожен номер 300210 на Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_2478

Биомолекулярни данни

Antigen expression	CDx (+/-), CDy (-),
Isoenzymes	AK-1, 1, ES-D, 1-2, GLO-1, 2, G6PD, B, PGM1, 1, PGM3, 1, Me-2, 1
Tumorigenic	При голи мишки
Viruses	Отрицателна обратна транскриптаза
Products	Карциномембрионален антиген (CEA) 0,5 ng/10 експ6 клетки/10 дни, алкална фосфатаза, кератин
Mutational profile	Клетките HRT-18 носят мутация в кодон 13 на гена Kras: GGC(Wt Gly) >GAC(Asp)

Работа с

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L глюкоза, w: 2,5 mM L-глутамин, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM натриев пируват, w: 1,2 g/L NaHCO ₃ (номер на изделието на Cytion 820400a)
Supplements	Допълнете средата с 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	15 часа

Клетки HCT-8 (HRT-18) | 300210

Subculturing Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирайте, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.

Seeding density 2 до 4×10^4 клетки/cm²

Fluid renewal 2 до 3 пъти седмично

Post-Thaw Recovery Бърз

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 HCT-8 (HRT-18) | 300210**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 $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, 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 антимикуробен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 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 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**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

Няма

**Freezing
Procedure**

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

Клетки HCT-8 (HRT-18) | 300210

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.

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 / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.

HLA алели

A*: '02:01:01, '24:02:01
B*: '08:01:01, '35:01:01
C*: '04:01:01, '07:01:01
DRB1*: '03:01:01, '14:54:01
DQA1*: '01:04:01, '05:01:01
DQB1*: '02:01:01, '05:03:01
DPB1*: '01:01:01, '04:01:01
E: '01:03:02, '01:xx