

Клетки HT-29 | 300215

Обща информация

Description

Клетъчната линия HT-29, получена от аденокарцином на дебелото черво от II степен, представлява основен изследователски модел при изучаването на рака на дебелото черво при човека. Произведени от първичен тумор на 44-годишна жена през 1964 г., клетките HT29 са допринесли за напредъка в разбирането на механизмите на адхезия или инвазия на раковите клетки. Като клетъчна линия на човешки аденокарцином, клетките HT-29 притежават характеристики, които силно наподобяват тези на зрелите чревни клетки, като например ентероцитите, което подчертава тяхната полезност при изследването на динамиката на смилането на храната и бионаличността на хранителните вещества.

Клетките HT-29 са чувствителни към конвенционалните химиотерапии за колоректален рак, включително 5-флуороурацил и оксалиплатин. Тази чувствителност, съчетана със способността им да експресират пътища на диференциация при специфични условия, като например лишаване от глюкоза или третиране с индуктори като бутират, ги превръща в безценен модел за изследване на молекулярните механизми, лежащи в основата на клетъчната диференциация и прогресията на рака.

Освен това клетките HT-29 се използват като ксенографт модел на тумор, осигурявайки платформа за *in vivo* изследвания, които имитират поведението на тумора в човешкото тяло. Това приложение дава възможност за изследване на туморния растеж, метастазите и ефикасността на терапевтичните средства в ситуации *in vivo*.

В обобщение, клетъчната линия HT-29 е ключов инструмент в медицинските и биологичните изследвания, който улеснява по-дълбокото разбиране на човешкия аденокарцином на дебелото черво, молекулярната основа на диференциацията на раковите клетки и разработването на ефективни методи за лечение на рак.

Organism Човек

Tissue Дебело черво

Disease Аденокарцином

Synonyms HT 29, HT29

Характеристики

Age 44 години

Gender Жена

Ethnicity Кавказки

Morphology Подобни на епител

Клетки HT-29 | 300215

Growth properties Придържачи се

Регулаторни данни

Citation HT-29 (каталожен номер 300215 на Cytion)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0320

Биомолекулярни данни

Receptors expressed Рецептор за урокиназа (u-PAR), витамин D (умерена експресия), не се открива активност на активатора на плазминогена.

Protein expression CEA отрицателен, p53 положителен

Antigen expression Кръвна група A, Rh+, HLA A1, A3, B12, B17, Cw5, CD4 -, експресия на галактоза церамид на клетъчната повърхност (възможен алтернативен рецептор за HIV)

Isoenzymes Me-2, 1, PGM3, 1-2, PGM1, 1-2, ES-D, 1, AK-1, 1, GLO-1, 1-2, G6PD, B, Фенотип Честота на продукта: 0.0230

Oncogenes Мус+, ras+, myb+, fos+, sis+, p53+, abl -, ros -, src -

Tumorigenic Да, при голи мишки. Образува добре диференциран аденокарцином, съответстващ на първичен колониален (степен I), тумори се образуват и при третирани със стероиди хамстери

Virus susceptibility Човешки имунодефицитен вирус (HIV, LAV)

Products Секретен компонент на IgA, карциноембрионален антиген (CEA), протеин, свързващ трансформация растежен фактор бета, муцин, свръхпроизводство на антиген p53

Karyotype Хромозомният брой на стволите хромозоми е хипертриплоиден, като компонентът 2S се среща в 2,4%. Седемнадесет маркерни хромозоми се откриват в повечето метафази, обикновено в по едно копие на хромозома. Обозначенията на маркерите са: M1p-(=t(3p-,?) с изтрито късо рамо), t(7q,?), t(10q,?), i(13q), 19q+a. M6, ?t(8q,9q-), ?xp, M9, 6q+, t(13,?)a, t(13,?)b, 19q+b, M14, M15, 15p+ и xq-. Хромозома 13 е нулизомична, а хромозоми 8 и 14 са обикновено монозомични. Чрез QM лентов анализ не е открита Y хромозома.

Клетки HT-29 | 300215

Работа с

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamine, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (номер на статията в Cytion 820100a)
Supplements	Допълнете средата с 10% FBS и 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	24 часа
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	3 x 10 ⁴ клетки/cm ²
Fluid renewal	2 до 3 пъти седмично
Post-Thaw Recovery	Бавно, клетките се нуждаят от около 48 часа, за да се установят и прилепят.
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 HT-29 | 300215

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 HT-29 | 300215

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*: '01:01:01, '24:03:01
B*: '35:01:01, '44:03:01
C*: '04:01:01
DRB1*: '04:02:01, '07:01:01
DQA1*: '02:01:01, '03:01:01
DQB1*: '02:02:01, '03:02:01
DPB1*: '04:01:01
E: '01:01, '01:03