

Buňky HCT-8 (HRT-18) | 300210**Obecné informace****Description**

Buňky HCT-8, známé také jako buňky lidského ileocekálního kolorektálního adenokarcinomu, jsou epiteliální buněčnou linií původně odvozenou od 67letého kavkazského pacienta s ileocekálním adenokarcinomem. Buněčná linie HCT-8 byla založena koncem 60. let 20. století a je široce využívána ve výzkumu rakoviny, zejména při studiu patogeneze kolorektálního karcinomu, metastáz a odpovědi na léčbu.

Morfologicky jsou buňky HCT-8 epiteliální a vykazují jednovrstevný růstový vzorec s polygonálním tvarem. Mají schopnost růst v adherentních i polosuspendovaných kulturách, což je charakteristické pro některá přechodná stadia metastazování nádorových buněk. Díky této vlastnosti jsou obzvláště užitečné pro studie týkající se invaze a migrace nádorových buněk.

Genotypově jsou buňky HCT-8 hypertriploidní a obsahují několik chromozomálních aberací běžných u kolorektálních karcinomů, včetně mutací a delecí, které jsou důležité pro progresi rakoviny a mechanismy rezistence. Tento genetický profil podporuje jejich využití v onkologických studiích, zejména těch, které se zaměřují na genetické dráhy zapojené do nádorového bujení a rezistence k lékům.

Výzkum využívající buňky HCT-8 významně přispěl k pochopení biologie kolorektálního karcinomu, včetně objasnění molekulárních drah zapojených do proliferace nádorových buněk, apoptózy a chemorezistence. Tato buněčná linie je i nadále důležitým modelem pro zkoumání účinnosti nových terapeutických látek a pro zkoumání molekulárních mechanismů, které jsou základem kolorektálního karcinomu.

Organism Člověk**Tissue** Konečník**Disease** Adenokarcinom**Synonyms** HCT 8, HCT8**Charakteristika****Age** 67 let**Gender** Muži**Morphology** Epitelu podobné**Growth properties** Adherentní**Regulační údaje**

Buňky HCT-8 (HRT-18) | 300210**Citation** HCT-8 (katalogové číslo Cytion 300210)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_2478**Biomolekulární data****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** U nahých myší**Viruses** Reverzní transkriptáza negativní**Products** Karcinoembryonální antigen (CEA) 0,5 ng/10 exp6 buněk/10 dní, alkalická fosfatáza, keratin**Mutational profile** Buňky HRT-18 nesou mutaci v kodonu 13 genu Kras: GGC(Wt Gly) >GAC(Asp)**Zpracování****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glukózy, w: 2,5 mM L-Glutaminu, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM pyruvátu sodného, w: 1,2 g/l NaHCO₃ (číslo výrobku Cytion 820400a)**Supplements** Doplněte médium o 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 15 hodin**Subculturing** Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.

Buňky HCT-8 (HRT-18) | 300210

Split ratio Doporučuje se poměr 1:4 až 1:8

Seeding density 2 až 4×10^4 buněk/cm²

Fluid renewal 2 až 3krát týdně

Post-Thaw Recovery Rychle

Freeze medium Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryem.

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Buňky HCT-8 (HRT-18) | 300210

Incubation Atmosphere 37 °C, 5 %_{CO2}, zvlhčená atmosféra.

Flask Coating Žádný

Freezing Procedure Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Shipping Conditions Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Storage Conditions Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuální kontrolám.

Profil STR

- Amelogenin:** x,y
- CSF1PO:** 12
- D13S317:** 8,11
- D16S539:** 12,13
- D5S818:** 13
- D7S820:** 10,12
- TH01:** 7,9,3
- TPOX:** 8,11
- vWA:** 18,19
- D3S1358:** 17
- D21S11:** 29,32,2
- D18S51:** 11,17
- Penta E:** 7,14
- Penta D:** 9,14
- D8S1179:** 15
- FGA:** 22

Buňky HCT-8 (HRT-18) | 300210

Alely HLA

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