Product sheet

Buňky HT-29 | 300215

Obecné informace

Description	Buněčná linie HT-29, odvozená z lidského kolorektálního adenokarcinomu II. stupně, představuje základní výzkumný model při studiu lidských nádorů tlustého střeva. Buňky HT22, odvozené z primárního nádoru 44leté ženy v roce 1964, se významně podílely na pokroku v poznání mechanismů adheze nebo invaze nádorových buněk. Jako buněčná linie lidského adenokarcinomu vykazují buňky HT-29 vlastnosti, které věrně napodobují zralé střevní buňky, jako jsou enterocyty, což podtrhuje jejich užitečnost při zkoumání dynamiky trávení potravy a biologické dostupnosti živin. Buňky HT-29 jsou citlivé na konvenční chemoterapii kolorektálního karcinomu, včetně 5-fluorouracilu a oxaliplatiny. Tato citlivost spolu s jejich schopností exprimovat diferenciační dráhy za specifických podmínek, jako je deprivace glukózy nebo léčba induktory, jako je butyrát, z nich činí neocenitelný model pro zkoumání molekulárních mechanismů, které jsou základem diferenciace buněk a progrese rakoviny. Buňky HT-29 byly navíc využity jako xenografický model nádoru, což poskytuje platformu pro studie in vivo, které napodobují chování nádoru v lidském těle. Toto použití umožňuje zkoumat růst nádoru, metastazování a účinnost terapeutických látek v situacích in vivo. Lze shrnout, že buněčná linie HT-29 je klíčovým nástrojem v lékařském a biologickém výzkumu, který usnadňuje hlubší pochopení lidského adenokarcinomu tlustého střeva, molekulární podstaty diferenciace nádorových buněk a vývoje účinných způsobů léčby rakoviny.
Organism	Člověk
Tissue	Střeva
Disease	Adenokarcinom
Synonyms	HT 29, HT29

Charakteristika

Age	44 let
Gender	Ženy
Ethnicity	Kavkazský
Morphology	Epitelu podobné
Growth properties	Adherentní

Buňky HT-29 | 300215

Regulační údaje

Citation	HT-29 (katalogové číslo Cytion 300215)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0320

Biomolekulární data

Receptors expressed	Receptor pro urokinázu (u-PAR), vitamin D (mírná exprese), aktivita aktivátoru plazminogenu není detekovatelná.
Protein expression	CEA negativní, p53 pozitivní
Antigen expression	Krevní typ A, Rh+, HLA A1, A3, B12, B17, Cw5, CD4 -, exprese galaktózového ceramidu na povrchu buněk (možný alternativní receptor pro HIV)
Isoenzymes	Me-2, 1, PGM3, 1-2, PGM1, 1-2, ES-D, 1, AK-1, 1, GLO-1, 1-2, G6PD, B, produkt fenotypové frekvence: 0.0230
Oncogenes	Myc+, ras+, myb+, fos+, sis+, p53+, abl -, ros -, src -
Tumorigenic	Ano, na nahých myších. Tvoří dobře diferencovaný adenokarcinom odpovídající primárnímu nádoru tlustého střeva (stupeň I), nádory se tvoří také u křečků léčených steroidy
Virus susceptibility	Virus lidské imunodeficience (HIV, LAV)
Products	Sekreční složka IgA, karcinoembryonální antigen (CEA), vazebný protein transformujícího růstového faktoru beta, mucin, Nadměrná produkce antigenu p53
Karyotype	Počet kmenových chromozomů je hypertriploidní s 2S složkou vyskytující se ve 2,4 %. Ve většině metafází se nachází sedmnáct markerových chromozomů, obvykle v jedné kopii na chromozom. Označení markerů je následující: M1p-(=t(3p-,?) s odstraněným krátkým ramenem), 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+ a xq-. Chromozom 13 je nullisomický a chromozomy 8 a 14 jsou obecně monosomické. QM pásmovou analýzou nebyl zjištěn žádný chromozom Y.

Zpracování

Buňky HT-29 | 300215

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/l NaHCO3, w: EBSS (číslo článku Cytion 820100a)
Supplements	Doplňte médium o 10 % FBS a 1 % NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	24 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 odstřeďte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhoďte, buňky znovu rozpusťte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.
Split ratio	Doporučuje se poměr 1:3 až 1:8
Seeding density	3×10^4 buněk/cm^2
Fluid renewal	2 až 3krát týdně
Post-Thaw Recovery	Pomalu, buňky potřebují zhruba 48 hodin, aby se usadily a přilnuly.
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 kryo.

Buňky HT-29 | 300215

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmražená, 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 odstřeďujte 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.

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 a molekulární analýza

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 vizuálním kontrolám.
Profil STR	**Amelogenin**: x,x **CSF1PO**: 11,12 **D13S317**: 11 **D16S539**: 11,12 **D5S818**: 11,12 **D7S820**: 10 **TH01**: 6,9 **TPOX**: 8,9 **vWA**: 17,19 **D3S1358**: 15,17 **D21S11**: 29,30 **D18S51**: 13 **Penta E**: 14,16 **Penta D**: 11,13 **D8S1179**: 10 **FGA**: 20,22
Alely HLA	**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