Product sheet

Κύτταρα HT55 | 305018

Γενικές πληροφορίες

Description	Η HT55 είναι μια κυτταρική σειρά ανθρώπινου αδενοκαρκινώματος του ορθού, η οποία δημιουργήθηκε από πρωτογενή όγκο του ορθού μιας 54χρονης γυναίκας καυκάσιας καταγωγής. Η σειρά αναπτύσσεται ως προσκολλητική μονοστρωματική καλλιέργεια με επιθηλιακή μορφολογία. Η HT55 φέρει πολλαπλές ετερόζυγες και ομόζυγες μεταλλάξεις απώλειας λειτουργίας στο γονίδιο καταστολέα όγκων *APC* (αδενοματώδης πολυποδία του παχέος εντέρου), συμπεριλαμβανομένων των p.Gln1131Ter, p.Gln1303Ter, p.Arg1463Ser, p.Asn581Tyr και p.Lys241Ter (όλες ετερόζυγες), καθώς και μια ομόζυγη υποκατάσταση p.Arg213Leu. Αυτό το προφίλ μεταλλάξεων καθιστά το HT55 ένα βιολογικά σχετικό μοντέλο καρκινογένεσης του παχέος εντέρου που προκαλείται από το APC, αντανακλώντας τη δυσλειτουργία της κανονικής οδού WNT που προκαλεί την πλειονότητα των καρκίνων του παχέος εντέρου στον άνθρωπο. Η HT55 χρησιμοποιείται ευρέως στην έρευνα για τον καρκίνο του παχέος εντέρου για μελέτες της σηματοδότησης WNT/β-κατενίνης, της λειτουργίας του ογκοκατασταλτικού γονιδίου APC, της ευαισθησίας και αντοχής στα φάρμακα, καθώς και για την προκλινική αξιολόγηση στοχευμένων παραγόντων κατά συστατικών της οδού WNT. Η σειρά είναι κατάλληλη για φαρμακολογικές αναλύσεις in vitro και μελέτες ξενομοσχεύματος σε μοντέλα ποντικών με ανοσοκαταστολή, παρέχοντας μια προσκολλητική, εύχρηστη πλατφόρμα in vitro για μηχανιστική και μεταφραστική έρευνα του καρκίνου του παχέος εντέρου. Η παρουσία πολλαπλών μεταλλάξεων κοπής του γονιδίου APC καθιστά την HT55 αντιπροσωπευτική του υποτύπου του καρκίνου του παχέος εντέρου με σταθερά μικροδορυφόρα και χρωμοσωμική αστάθεια, ο οποίος συνήθως οφείλεται στην απώλεια λειτουργίας του APC.
Organism	Ανθρώπινο
Tissue	Ορθό
Disease	Αδενοκαρκίνωμα
Applications	Έρευνα για τον καρκίνο του παχέος εντέρου· μελέτες της οδού WNT/APC· δοκιμές ευαισθησίας και αντοχής στα φάρμακα· προκλινική ογκολογία· μοντέλα ξενομοσχεύματος· αξιολόγηση στοχευμένης θεραπείας
Synonyms	HT55

Χαρακτηριστικά

Age	54 χρόνια
Gender	Γυναίκα
Ethnicity	Καυκάσιος
Morphology	Επιθηλιοειδής

Κύτταρα HT55 | 305018

Cell type	Επιθηλιακά κύτταρα
Growth properties	Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation	HT55 (αριθμός καταλόγου Cytion 305018)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1294

Βιομοριακά δεδομένα

Mutational profile	Μεταλλαγή: p.Gln1131Ter, ετερόζυγη· Μεταλλαγή: p.Gln1303Ter, ετερόζυγη· Μεταλλαγή: p.Arg1463Ser, ετερόζυγη· Μεταλλαγή: p.Asn581Tyr, ετερόζυγη· Μεταλλαγή: p.Lys241Ter, ετερόζυγη· Μετάλλαξη: p.Arg213Leu, ομόζυγος

Χειρισμός

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-γλουταμίνη, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (αριθμός άρθρου Cytion 820100a)
Supplements	Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	28 ώρες
Subculturing	Απομακρύνετε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύνετέ τα με PBS χωρίς ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS, ενώ για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά, ώστε να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, ανακατέψτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml θρεπτικού μέσου για να τα επαναδιαλύσετε και, στη συνέχεια, φυγοκεντρήστε στα 300×g για 3 λεπτά. Απορρίψτε τον υπερκείμενο, επαναδιαλύστε τα κύτταρα σε φρέσκο θρεπτικό μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο θρεπτικό μέσο.

Κύτταρα HT55 | 305018

Split ratio	1 έως 5
Seeding density	1 έως 3 x 10^4 κύτ^{ταρα}/cm^2
Fluid renewal	Κάθε 2 έως 3 ημέρες
Freeze medium	Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.

2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.

3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.

4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.

5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.

6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.

7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.

8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

Κύτταρα HT55 | 305018

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, υγροποιημένη ατμόσφαιρα.
Shipping Conditions	Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.
Storage Conditions	Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Έλεγχος ποιότητας και μοριακή ανάλυση