Product sheet

Κύτταρα HT-29 | 300215

Γενικές πληροφορίες

Description	Η κυτταρική σειρά HT-29, η οποία προέρχεται από ένα ανθρώπινο αδενοκαρκίνωμα του παχέος εντέρου βαθμού II, αποτελεί ακρογωνιαίο ερευνητικό μοντέλο για τη μελέτη των ανθρώπινων καρκίνων του παχέος εντέρου. Προερχόμενα από πρωτογενή όγκο σε μια 44χρονη γυναίκα το 1964, τα κύτταρα HT-29 έχουν συμβάλει καθοριστικά στην κατανόηση των μηχανισμών προσκόλλησης ή εισβολής των καρκινικών κυττάρων. Ως ανθρώπινη κυτταρική σειρά αδενοκαρκινώματος, τα κύτταρα HT-29 παρουσιάζουν χαρακτηριστικά που μιμούνται στενά εκείνα των ώριμων εντερικών κυττάρων, όπως τα εντεροκύτταρα, υπογραμμίζοντας τη χρησιμότητά τους στη διερεύνηση της δυναμικής της πέψης της τροφής και της βιοδιαθεσιμότητας των θρεπτικών συστατικών. Τα κύτταρα HT-29 είναι ευαίσθητα στις συμβατικές χημειοθεραπείες του καρκίνου του παχέος εντέρου, συμπεριλαμβανομένης της 5-φθοροουρακίλης και της οξαλιπλατίνης. Αυτή η ευαισθησία, σε συνδυασμό με την ικανότητά τους να εκφράζουν μονοπάτια διαφοροποίησης υπό συγκεκριμένες συνθήκες, όπως η στέρηση γλυκόζης ή η θεραπεία με επαγωγείς όπως το βουτυρικό οξύ, τα καθιστά ανεκτίμητο μοντέλο για τη διερεύνηση των μοριακών μηχανισμών που διέπουν τη διαφοροποίηση των κυττάρων και την εξέλιξη του καρκίνου. Επιπλέον, τα κύτταρα HT-29 έχουν χρησιμοποιηθεί ως μοντέλο ξενομοσχεύματος όγκου, παρέχοντας μια πλατφόρμα για in vivo μελέτες που μιμούνται τη συμπεριφορά του όγκου στο ανθρώπινο σώμα. Η εφαρμογή αυτή επιτρέπει τη διερεύνηση της ανάπτυξης του όγκου, της μετάστασης και της αποτελεσματικότητας των θεραπευτικών παραγόντων σε in vivo καταστάσεις. Συνοπτικά, η κυτταρική σειρά HT-29 αποτελεί ένα βασικό εργαλείο στην ιατρική και βιολογική έρευνα, διευκολύνοντας τη βαθύτερη κατανόηση του ανθρώπινου αδενοκαρκινώματος του παχέος εντέρου, τη μοριακή βάση της διαφοροποίησης των καρκινικών κυττάρων και την ανάπτυξη αποτελεσματικών θεραπειών για τον καρκίνο.
Organism	Ανθρώπινο
Tissue	Κόλον
Disease	Αδενοκαρκίνωμα
Synonyms	HT 29, HT29

Χαρακτηριστικά

Age	44 χρόνια
Gender	Γυναίκα
Ethnicity	Καυκάσιος
Morphology	Επιθηλιοειδής

Κύτταρα HT-29 | 300215

Growth properties	Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation	HT-29 (αριθμός καταλόγου Cytion 300215)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0320

Βιομοριακά δεδομένα

Receptors expressed	Υποδοχέας ουροκινάσης (u-PAR), βιταμίνη D (μέτρια έκφραση), χωρίς ανιχνεύσιμη δραστηριότητα ενεργοποιητή πλασμινογόνου.
Protein expression	CEA αρνητικό, p53 θετικό
Antigen expression	Ομάδα αίματος A, Rh+, HLA A1, A3, B12, B17, Cw5, CD4 -, κυτταρική επιφανειακή έκφραση του κεραμιδίου γαλακτόζης (ένας πιθανός εναλλακτικός υποδοχέας για τον HIV)
Isoenzymes	Me-2, 1, PGM3, 1-2, PGM1, 1-2, ES-D, 1, AK-1, 1, GLO-1, 1-2, G6PD, B, Προϊόν συχνότητας φαινοτύπων: 0.0230
Oncogenes	Myc+, ras+, myb+, fos+, sis+, p53+, abl -, ros -, src -
Tumorigenic	Ναι, σε γυμνά ποντίκια. Σχηματίζει καλά διαφοροποιημένο αδενοκαρκίνωμα συμβατό με πρωτογενές του παχέος εντέρου (βαθμός I), όγκοι σχηματίζονται επίσης σε χάμστερ που υποβάλλονται σε θεραπεία με στεροειδή
Virus susceptibility	Ιός της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας (HIV, LAV)
Products	Εκκριτικό συστατικό της IgA, καρκινοεμβρυϊκό αντιγόνο (CEA), πρωτεΐνη δέσμευσης του μετασχηματιστικού αυξητικού παράγοντα βήτα, μουκίνη, Το αντιγόνο p53 υπερπαράγεται

Κύτταρα HT-29 | 300215

Karyotype	Ο αριθμός των χρωμοσωμάτων της βλαστικής γραμμής είναι υπερτριπλοειδής με το συστατικό 2S να εμφανίζεται σε ποσοστό 2,4%. Δεκαεπτά χρωμοσώματα-δείκτες βρίσκονται στις περισσότερες μεταφάσεις, γενικά σε ένα αντίγραφο ανά χρωμόσωμα. Οι ονομασίες των δεικτών είναι: - Χρωματοστοιχεία δείκτη: - Χρωματοστοιχεία δείκτη: M1p-(=t(3p-,?) με διαγραμμένο βραχύ σκέλος), 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+ και xq-. Το χρωμόσωμα 13 είναι μηδενισωμικό και τα χρωμοσώματα 8 και 14 είναι γενικά μονοσωμικά. Κανένα χρωμόσωμα Y δεν ανιχνεύθηκε με την ανάλυση ζωνών QM.

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 και 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	24 ώρες
Subculturing	Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και 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 για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.
Seeding density	3 x 10^4 κύτταρα/cm^2
Fluid renewal	2 έως 3 φορές την εβδομάδα
Post-Thaw Recovery	Αργά, τα κύτταρα χρειάζονται περίπου 48 ώρες για να εγκατασταθούν και να προσκολληθούν.
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.

Κύτταρα HT-29 | 300215

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.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, υγροποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Κανένα

Freezing Procedure

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.

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

Sterility	Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια. Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.
HLA αλληλόμορφα	**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