

HT55-rakud | 305018

Üldine teave

Description

HT55 on inimese pärasoole adenokartsinoomi rakuliin, mis on saadud 54-aastase kaukaasia päritolu naise esmasest pärasoole kasvajast. Rakuliin kasvab adhesiivse monokihina, millel on epiteelilaadne morfoloogia. HT55-s esineb mitmeid heterosügootseid ja homosügootseid funktsiooni kaotust põhjustavaid mutatsioone APC (adenomatoosne polüpoos coli) kasvajakavastases geenis, sealhulgas p.Gln1131Ter, p.Gln1303Ter, p.Arg1463Ser, p.Asn581Tyr ja p.Lys241Ter (kõik heterosügootsed), samuti homosügootne p.Arg213Leu asendus. See mutatsiooniprofiil muudab HT55 bioloogiliselt asjakohaseks mudeliks APC-st tingitud kolorektaalse kartsinogeneesi uurimiseks, peegeldades kanonilise WNT-signaalitee düsregulatsiooni, mis on enamiku inimeste kolorektaalvähkide põhjuseks.

HT55-t kasutatakse laialdaselt kolorektaalvähi uurimisel WNT/ β -kateniini signaalimise, APC-i kasvajakavastase funktsiooni, ravimite tundlikkuse ja resistentsuse uurimiseks ning WNT-signaalitee komponentidele suunatud ravimite prekliiniliseks hindamiseks. See liin sobib in vitro farmakoloogilisteks analüüsideks ja ksenotransplantaadi uuringuteks immuunpuudulikkusega hiiremudelites, pakkudes adhesiivset ja hõlpsasti käsitletavat in vitro platvormi kolorektaalvähi mehhanistlikuks ja translatsiooniliseks uurimiseks. Mitmete APC-trunkatsioonimutatsioonide olemasolu teeb HT55-st tüüpilise näite mikrosatelliitide poolest stabiilsest, kromosoomiliselt ebastabiilsest kolorektaalvähi alatüübist, mida tavaliselt põhjustab APC funktsiooni kadu.

Organism

Inimene

Tissue

Rektum

Disease

Adenokartsinoom

Applications

Kolorektaalvähi uurimine; WNT/APC signaalitee uuringud; ravimite tundlikkuse ja resistentsuse testimine; prekliiniline onkoloogia; ksenotransplantaadi mudelid; sihtterapia hindamine

Synonyms

HT55

Omadused

Age

54 aastat

Gender

Naised

Ethnicity

Kaukaasia

Morphology

Epiteelilaadsed

Cell type

Epiteelirakud

HT55-rakud | 305018

Growth properties

Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation HT55 (Cytioni katalooginumber 305018)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1294

Biomolekulaarsed andmed

Mutational profile Mutatsioon: p.Gln1131Ter, heterosügootne; Mutatsioon: p.Gln1303Ter, heterosügootne; Mutatsioon: p.Arg1463Ser, heterosügootne; Mutatsioon: p.Asn581Tyr, heterosügootne; Mutatsioon: p.Lys241Ter, heterosügootne; Mutatsioon: p.Arg213Leu, homosügootne

Töötlemine

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamiin, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytioni artikli number 820100a)**Supplements** Täiendada söötme 10% FBS-ga**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 28 tundi**Subculturing** Eemaldage kinnitunud rakkudelt vana kasvukeskkond ja peske neid kaltsiumi- ja magneesiumivaba PBS-ga. T25-kolvide puhul kasutage 3–5 ml PBS-i, T75-kolvide puhul 5–10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades T25 kolvide puhul 1–2 ml ja T75 kolvide puhul 2,5 ml. Laske rakkudel toatemperatuuril 8–10 minutit inkubeerida, et need lahti tuleksid. Pärast inkubeerimist segage rakke õrnalt 10 ml kasvukeskkonnaga, et need uuesti suspendeerida, ning tsentrifuugige seejärel 300×g juures 3 minutit. Viskage supernatant ära, suspendeerige rakud uuesti värskes kasvukeskkonnas ja kandke need üle uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket kasvukeskkonda.**Split ratio** 1–5

HT55-rakud | 305018

Seeding density 1 kuni 3×10^4 rakku/cm²

Fluid renewal Iga 2 kuni 3 päeva tagant

Freeze medium Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumbriga 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vialal jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vialali kiiresti, kastes selle 37 °C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud vialali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, niisutatud atmosfäär.

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

HT55-rakud | 305018

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll ja molekulaaranalüüs