

HCT-8 (HRT-18) rakud | 300210**Üldine teave****Description**

HCT-8 rakud, mida tuntakse ka inimese ileotsiaalse kolorektaalse adenokartsinoomi rakkude nime all, on epiteelirakuliin, mis on algselt saadud 67-aastase kaukaasia meessoost patsiendi ileotsiaalse adenokartsinoomiga. HCT-8 rakuliin loodi 1960. aastate lõpus ja seda kasutatakse laialdaselt vähiuuringutes, eelkõige kolorektaalvähi patogeneesi, metastaaside tekke ja ravivastuse uurimisel.

Morfoloogiliselt on HCT-8 rakud epiteelilaadsed ja neil on monokihiline kasvumuster, millel on hulknurkne kuju. Neil on võime kasvada nii adherentsetes kui ka poolsuspendeeritud kultuurides, mis on iseloomulik mõnele vähirakkude metastaasi üleminekustaadiumile. See omadus muudab nad eriti kasulikuks vähirakkude invasiooni ja migratsiooni uuringutes.

Geenitüübilt on HCT-8 rakud hüpertriploidsed, sisaldades mitmeid kromosoomaberratsioone, mis on levinud kolorektaalkartsinoomides, sealhulgas mutatsioonid ja deletsioonid, mis on olulised vähi progresseerumise ja resistentsuse mehhanismide seisukohast. Selline geneetiline profiil toetab nende kasutamist onkoloogilistes uuringutes, eriti nendes, mis keskenduvad kasvaja tekke ja ravimiresistentsuse geneetilistele radadele.

HCT-8 rakke kasutavad uuringud on oluliselt kaasa aidanud kolorektaalvähi bioloogia mõistmisele, sealhulgas vähirakkude proliferatsiooni, apoptoosi ja kemoresistentsusega seotud molekulaarsete selgitamisele. See rakuliin on jätkuvalt oluline mudel uute raviainete tõhususe uurimiseks ja kolorektaalvähi aluseks olevate molekulaarsete mehhanismide uurimiseks.

Organism Inimene**Tissue** Rektum**Disease** Adenokartsinoom**Synonyms** HCT 8, HCT8**Omadused****Age** 67 aastat**Gender** Mees**Morphology** Epiteelilaadsed**Growth properties** Kinnipeetav**Regulatiivsed andmed**

HCT-8 (HRT-18) rakud | 300210**Citation** HCT-8 (Cytioni katalooginumber 300210)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_2478**Biomolekulaarsed andmed****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** Alasti hiirtel**Viruses** Reverse transkriptaasi negatiivne**Products** Kartsiiinoembüooniline antigeen (CEA) 0,5 ng/10 exp6 rakku/10 päeva, leeliseline fosfaataas, keratiin**Mutational profile** HRT-18 rakud kannavad mutatsiooni Kras'i geeni 13. koodonis: GGC(Wt Gly) >GAC(Asp)**Töötlemine****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glükoosi, w: 2,5 mM L-glutamiini, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM naatriumpüruvaati, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (Cytioni artikli number 820400a)**Supplements** Täiendada söötme 10% FBS-ga**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 15 tundi**Subculturing** Eemaldage kleepunud rakkudel vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifugege 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.

HCT-8 (HRT-18) rakud | 300210

Seeding density 2 kuni 4×10^4 rakku/cm²

Fluid renewal 2 kuni 3 korda nädalas

Post-Thaw Recovery Kiire

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

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vial 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 vial 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 vial 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.

Flask Coating Puudub

HCT-8 (HRT-18) rakud | 300210

Freezing Procedure

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 viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

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 viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

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 / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.

HLA alleles

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