Product sheet

HT-29 rakud | 300215

Üldine teave

Description	HT-29 rakuliin, mis on saadud inimese II astme kolorektaalse adenokartsinoomi rakust, on inimese käärsoolevähi uurimise nurgakivi. HT22 rakud, mis on saadud 1964. aastal 44-aastase naise primaarsest kasvajast, on aidanud kaasa vähirakkude adhesiivsete või invasiivsete mehhanismide mõistmisele. Inimese adenokartsinoomi rakuliinina on HT-29 rakkudel omadused, mis jäljendavad lähedalt küpsete soolestiku rakkude, näiteks enterotsüütide omadusi, mis rõhutab nende kasulikkust toidu seedimise ja toitainete biosaadavuse dünaamika uurimisel. HT-29 rakud on tundlikud tavapäraste kolorektaalvähi kemoteraapiate, sealhulgas 5-fluorouratsiili ja oksaliplatiini suhtes. See tundlikkus koos nende võimega ekspresseerida diferentseerumisradasid spetsiifilistes tingimustes, nagu glükoosipuudus või ravi indutseerijatega, nagu butüraat, teeb neist hindamatu väärtusega mudeli rakkude diferentseerumise ja vähi progresseerumise aluseks olevate molekulaarsete mehhanismide uurimiseks. Lisaks on HT-29 rakke kasutatud ksenotransplantaadi kasvajamudelina, mis pakub platvormi in vivo uuringuteks, mis jäljendavad kasvaja käitumist inimkehas. See rakendus võimaldab uurida kasvaja kasvu, metastaaside teket ja terapeutiliste ainete tõhusust in vivo olukordades. Kokkuvõtteks võib öelda, et HT-29 rakuliin on meditsiiniliste ja bioloogiliste uuringute keskne vahend, mis aitab paremini mõista inimese käärsoole adenokartsinoomi, vähirakkude diferentseerumise molekulaarseid aluseid ja tõhusate vähiravimite väljatöötamist.
Organism	Inimene
Tissue	Colon
Disease	Adenokartsinoom
Synonyms	HT 29, HT29

Omadused

Age	44 aastat
Gender	Naised
Ethnicity	Kaukaasia
Morphology	Epiteelilaadsed
Growth properties	Kinnipeetav

Product sheet

HT-29 rakud | 300215

Regulatiivsed andmed

Citation	HT-29 (Cytioni kataloginumber 300215)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0320

Biomolekulaarsed andmed

Receptors expressed	Urokinaasi retseptor (u-PAR), D-vitamiin (mõõdukas ekspressioon), plasminogeeni aktivaatori aktiivsus ei ole tuvastatav.
Protein expression	CEA negatiivne, p53 positiivne
Antigen expression	Veregrupp A, Rh+, HLA A1, A3, B12, B17, Cw5, CD4 -, galaktoos-tseramiidi (võimalik alternatiivne retseptor HIV jaoks) rakupinna ekspressioon
Isoenzymes	Me-2, 1, PGM3, 1-2, PGM1, 1-2, ES-D, 1, AK-1, 1, GLO-1, 1-2, G6PD, B, fenotüübi sagedustoode: 0.0230
Oncogenes	Myc+, ras+, myb+, fos+, sis+, p53+, abl -, ros -, src -
Tumorigenic	Jah, alasti hiirtel. Moodustab hästi diferentseerunud adenokartsinoomi, mis vastab koloniidi primaarsele (I aste), kasvajad tekivad ka steroididega ravitud hamstritel
Virus susceptibility	Inimese immuunpuudulikkuse viirus (HIV, LAV)
Products	IgA sekretoorne komponent, kartsinoembrüonaalne antigeen (CEA), transformeeriva kasvufaktori beeta seonduv valk, mukiin, p53 antigeen on üleprodutseeritud
Karyotype	Tüveline kromosoomide arv on hüpertriploidne, kusjuures 2S-komponent esineb 2,4% ulatuses. Enamikus metafaasides leidub seitseteist markerkromosoomi, tavaliselt ühe koopiana kromosoomi kohta. Markerite nimetused on järgmised: M1p- (=t(3p-,?) koos kustutatud lühikese käega), 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+ ja xq-. Kromosoom 13 on nullisoomne ja kromosoomid 8 ja 14 on üldiselt monosoomsed. QM-ribade analüüsiga ei tuvastatud ühtegi Y-kromosoomi.

Töötlemine

HT-29 rakud | 300215

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 ja 1% NEAAga
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	24 tundi
Subculturing	Eemaldage kleepunud rakkudelt 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 tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.
Seeding density	3 x 10^4 rakku/cm^2
Fluid renewal	2 kuni 3 korda nädalas
Post-Thaw Recovery	Aeglane, rakud vajavad umbes 48 tundi, et settida ja kinnituda.
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 viaal 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 viaali 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 viaali 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. Adhereeruvate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötmekeskkond 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
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 ja molekulaaranalüüs

Sterility	Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminestsentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil. Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.
HLA alleles	**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