

HT55-solut | 305018

Yleisiä tietoja

Description

HT55 on ihmisen peräsuolen adenokarsinooman solulinja, joka on peräisin 54-vuotiaan valkoihoisen naisen primaarisesta peräsuolikasvaimesta. Solulinja kasvaa kiinnittyvänä yksikerroksena, jonka morfologia muistuttaa epiteeliä. HT55-solulinjassa on useita heterotsygoottisia ja homotsygoottisia funktionaalisen menetyksen mutaatioita APC-kasvainsuppressorigeenissä (adenomatoottinen polypoosi coli), mukaan lukien p.Gln1131Ter, p.Gln1303Ter, p.Arg1463Ser, p.Asn581Tyr ja p.Lys241Ter (kaikki heterotsygoottisia) sekä homotsygoottisen p.Arg213Leu-substituution. Tämä mutaatioprofiili tekee HT55:stä biologisesti merkittävän mallin APC:n ohjaamasta kolorektaalisen syövän syntymisestä, mikä heijastaa kanonisen WNT-signaalireitin säätelyhäiriötä, joka ohjaa suurinta osaa ihmisen kolorektaalisista syövästä.

HT55-linjaa käytetään laajalti kolorektaalisyövän tutkimuksessa WNT/ β -kateniini-signaaloinnin, APC-kasvainsuppressorigeenin toiminnan, lääkeherkkyyden ja -resistenssin tutkimuksissa sekä WNT-signaalintireitin komponentteihin kohdistuvien lääkeaineiden prekliinisessä arvioinnissa. Kanta soveltuu in vitro -farmakologisiin määrittämiin ja ksenotransplantaattitutkimuksiin immuunipuutteisissa hiirimalleissa, ja se tarjoaa kiinnittyvän, helposti käsiteltävän in vitro -alustan kolorektaalisyövän mekanistiseen ja translaationaaliseen tutkimukseen. Useiden APC-trunkaatiomutaatioiden läsnäolo tekee HT55:stä edustavan esimerkin mikrosatelliittivakaasta, kromosomaalisesti epävakaasta paksusuolisyövän alatyypistä, jota yleisesti ajaa eteenpäin APC:n toimintahäiriö.

Organism

Ihminen

Tissue

Peräsuoli

Disease

Adenokarsinooma

Applications

Paksusuolen ja peräsuolen syövän tutkimus; WNT/APC-signaalireitin tutkimukset; lääkeherkkyys- ja resistenssitestaus; prekliininen onkologia; ksenotransplantaattimallit; kohdennetun hoidon arviointi

Synonyms

HT55

Ominaisuudet

Age

54 vuotta

Gender

Nainen

Ethnicity

Kaukasialainen

Morphology

Epiteelin kaltainen

Cell type

Epiteelisolut

HT55-solut | 305018

Growth properties

Tarttuva

Säätelytiedot

Citation HT55 (Cytion-tuotenumero 305018)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1294

Biomolekyyli tiedot

Mutational profile Mutaatio: p.Gln1131Ter, heterotsygootti; Mutaatio: p.Gln1303Ter, heterotsygootti; Mutaatio: p.Arg1463Ser, heterotsygootti; Mutaatio: p.Asn581Tyr, heterotsygootti; Mutaatio: p.Lys241Ter, heterotsygootti; Mutaatio: p.Arg213Leu, homotsygootti

Käsittely

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamiini, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytionin artikkelinumero 820100a)**Supplements** Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 28 tuntia**Subculturing** Poista vanha elatusaine kiinnittyneistä soluista ja huuhtelee ne kalsiumia ja magnesiumia sisältämättömällä PBS-liuoksella. Käytä T25-pulloihin 3–5 ml PBS-liuosta ja T75-pulloihin 5–10 ml. Peitä solut sitten kokonaan Accutase-liuoksella; käytä 1–2 ml T25-pulloihin ja 2,5 ml T75-pulloihin. Anna solujen inkuboida huoneenlämmössä 8–10 minuuttia, jotta ne irtoavat. Inkuboinnin jälkeen sekoita soluja varovasti 10 ml:n kanssa elatusainetta niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoi sitten 300×g:ssa 3 minuuttia. Hävitä supernatantti, resuspendoi solut tuoreeseen elatusaineeseen ja siirrä ne uusiin pulloihin, joissa on jo tuoretta elatusainetta.**Split ratio** 1–5**Seeding density** 1–3 x 10⁴ solua/cm²

HT55-solut | 305018

Fluid renewal 2-3 päivän välein**Freeze medium**

Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädytettynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäätssä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäätä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere37 °C, 5 % CO₂, kostutettu ilmakehä.**Shipping Conditions**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäätssä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

HT55-solut | 305018

Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi