Product sheet

HT-29-solut | 300215

Yleisiä tietoja

Description	HT-29-solulinja, joka on peräisin ihmisen II-asteen paksusuolen adenokarsinoomasta, on kulmakiviä ihmisen paksusuolisyövän tutkimuksessa. HT-29-solut, jotka on johdettu 44-vuotiaan naisen primaarikasvaimesta vuonna 1964, ovat edistäneet merkittävästi syöpäsolujen tarttumis- ja invaasiomekanismien ymmärtämistä. Ihmisen adenokarsinoomasolulinjana HT-29-solut muistuttavat ominaisuuksiltaan läheisesti kypsiä suolistosoluja, kuten enterosyyttejä, mikä korostaa niiden hyödyllisyyttä ruoan sulatuksen ja ravintoaineiden biologisen hyötyosuuden dynamiikan tutkimisessa. HT-29-solut ovat herkkiä tavanomaisille kolorektaalisyövän kemoterapioille, kuten 5-fluorourasiilille ja oksaliplatiinille. Tämä herkkyys yhdistettynä niiden kykyyn ilmentää erilaistumisreittejä tietyissä olosuhteissa, kuten glukoosin puute tai hoito induktoreilla, kuten butyraatilla, tekee niistä korvaamattoman arvokkaan mallin solujen erilaistumisen ja syövän etenemisen taustalla olevien molekyylimekanismien tutkimiseen. Lisäksi HT-29-soluja on käytetty ksenograft-kasvainmallina, joka tarjoaa alustan in vivo -tutkimuksille, jotka jäljittelevät kasvaimen käyttäytymistä ihmiskehossa. Tämä sovellus mahdollistaa kasvaimen kasvun, etäpesäkkeiden ja terapeuttisten aineiden tehon tutkimisen in vivo -tilanteissa. Yhteenvetona voidaan todeta, että HT-29-solulinja on keskeinen väline lääketieteellisessä ja biologisessa tutkimuksessa, joka helpottaa ihmisen paksusuolen adenokarsinooman syvempää ymmärtämistä, syöpäsolujen erilaistumisen molekyyliperustaa ja tehokkaiden syöpähoitojen kehittämistä.
Organism	Ihminen
Tissue	Paksusuoli
Disease	Adenokarsinooma
Synonyms	HT 29, HT29

Ominaisuudet

Age	44 vuotta
Gender	Nainen
Ethnicity	Kaukasialainen
Morphology	Epiteelin kaltainen
Growth properties	Tarttuva

HT-29-solut | 300215

Sääntelytiedot

Citation	HT-29 (Cytionin luettelonumero 300215)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0320

Biomolekyylitiedot

Receptors expressed	Urokinaasireseptori (u-PAR), D-vitamiini (kohtalainen ilmentyminen), ei havaittavaa plasminogeenin aktivaattoriaktiivisuutta.
Protein expression	CEA negatiivinen, p53 positiivinen
Antigen expression	Veriryhmä A, Rh+, HLA A1, A3, B12, B17, Cw5, CD4 -, galaktoosseramidin (mahdollinen vaihtoehtoinen reseptori HIV:lle) solupinnan ekspressio
Isoenzymes	Me-2, 1, PGM3, 1-2, PGM1, 1-2, ES-D, 1, AK-1, 1, GLO-1, 1-2, G6PD, B, Fenotyypin frekvenssituote: 0.0230
Oncogenes	Myc+, ras+, myb+, fos+, sis+, p53+, abl -, ros -, src -
Tumorigenic	Kyllä, alastomilla hiirillä. Muodostaa hyvin erilaistunutta adenokarsinoomaa, joka vastaa paksusuolen primaaria (aste I), kasvaimia muodostuu myös steroidihoidetuissa hamstereissa
Virus susceptibility	Ihmisen immuunikatovirus (HIV, LAV)
Products	IgA:n erittyvä komponentti, karsinoembryoninen antigeeni (CEA), transformoiva kasvutekijä beeta-sitova proteiini, mukiini, p53-antigeeni tuotetaan liikaa
Karyotype	Kromosomiluku on hypertriploidi, ja 2S-komponenttia on 2,4 prosenttia. Useimmissa metafaaseissa on seitsemäntoista merkkikromosomia, yleensä yksi kopio kromosomia kohti. Markkerien nimet ovat: M1p-(=t(3p-,?), jossa on poistettu lyhyt varsi), 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-. Kromosomi 13 on nollisominen ja kromosomit 8 ja 14 ovat yleensä monosomisia. Y-kromosomia ei havaittu QM-kaista-analyysissä.

Käsittely

HT-29-solut | 300215

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 % FBS:llä ja 1 % NEAA:lla
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	24 tuntia
Subculturing	Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreeseen väliaineeseen ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.
Seeding density	$3 \times 10^{4\ \text{solua}}/\text{cm}^2$
Fluid renewal	2-3 kertaa viikossa
Post-Thaw Recovery	Hitaasti, solut tarvitsevat noin 48 tuntia asettuakseen ja kiinnittyäkseen.
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 osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

HT-29-solut | 300215

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädytettynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, 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 jäästä 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 Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, kostutettu ilmakehä.
Flask Coating	Ei mitään
Freezing Procedure	Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä 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.
Shipping Conditions	Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä 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.

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

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi

Sterility	Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä. Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.
HLA-alleelit	**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