

HT55 sejtek | 305018

Általános információk

Description

Az HT55 egy emberi rektális adenokarcinóma sejtvonala, amelyet egy 54 éves kaukázusi nő elsődleges rektális daganatából állítottak elő. A sejtvonala adhezív monoretegként növekszik, epiteliális jellegű morfológiával rendelkezik, és a Cellosaurus adatbázisban CVCL_1294 kód alatt szerepel. Az HT55 számos heterozigóta és homozigóta funkcióvesztéses mutációt hordoz az APC (adenomatous polyposis coli) tumor szuppresszor génben, beleértve a p.Gln1131Ter, p.Gln1303Ter, p.Arg1463Ser, p.Asn581Tyr és p.Lys241Ter (mind heterozigóta), valamint egy homozigóta p.Arg213Leu szubsztitúciót hordoz. Ez a mutációs profil az HT55-öt az APC által vezérelt kolorektális karcinogenezis biológiailag releváns modelljévé teszi, tükrözve a kanonikus WNT-út vonal szabályozási zavarát, amely az emberi kolorektális rákok többségét okozza.

Az HT55-öt széles körben használják a kolorektális rák kutatásában a WNT/ β -katenin jelátvitel, az APC tumor-szuppresszor funkciója, a gyógyszerérzékenység és -rezisztencia vizsgálatához, valamint a WNT-út vonal komponensei ellen irányuló célzott szerek preklinikai értékeléséhez. A vonal alkalmas in vitro farmakológiai vizsgálatokra és immunhiányos egérmodellekben végzett xenotranszplantációs vizsgálatokra, így tapadó, kezelhető in vitro platformot biztosít a kolorektális rák mechanisztikus és transzlációs kutatásához. A többszörös APC-trunkációs mutációk jelenléte miatt az HT55 reprezentatív példája annak a mikroszatellit-stabil, kromozómáisan instabil kolorektális rák altípusnak, amelyet általában az APC funkcióvesztése okoz.

Az HT55-öt EMEM-ben (MEM Eagle, w: 2 mM L-glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS; Cytion cikkszám: 820100a) tápközegben, 10% FBS-kiegészítéssel, 37 °C-on, 5% CO₂-tartalmú párásított légkörben. A sejteket Accutase segítségével szubkultiváljuk, amikor a sejtek körülbelül 80–90%-ban konfluensek, az ajánlott osztási arány 1:3–1:5, a beültetési sűrűség pedig $1-3 \times 10^4$ sejt/cm². A tápközéget 2–3 naponta cseréljük. A duplázódási idő körülbelül 28 óra.

Organism Emberi

Tissue Végbél

Disease Adenokarcinóma

Applications Vastagbél- és végbélrák kutatása; a WNT/APC jelátviteli út vonal vizsgálata; gyógyszerérzékenységi és -rezisztencia vizsgálatok; preklinikai onkológia; xenotranszplantációs modellek; célzott terápiák értékelése

Synonyms HT55

Jellemzők

Age 54 év

Gender Női

Ethnicity Kaukázusi

HT55 sejtek | 305018

Morphology Epithelszerű

Cell type Epithel sejtek

Growth properties Adherent

Szabályozási adatok

Citation HT55 (Cytion katalógusszám: 305018)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_1294

Biomolekuláris adatok

Mutational profile Mutáció: p.Gln1131Ter, heterozigóta; Mutáció: p.Gln1303Ter, heterozigóta; Mutáció: p.Arg1463Ser, heterozigóta; Mutáció: p.Asn581Tyr, heterozigóta; Mutáció: p.Lys241Ter, heterozigóta; Mutáció: p.Arg213Leu, homozigóta

A kezelése

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytion cikkszám: 820100a)

Supplements A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 28 óra

Subculturing Távolítsuk el a régi táptalajt a tapadó sejtekről, majd mossuk le őket kalcium- és magnéziummentes PBS-sel. T25-ös lombikok esetén 3–5 ml PBS-t, T75-ös lombikok esetén pedig 5–10 ml-t használjunk. Ezután teljesen fedje be a sejteket Accutase-szel, T25-ös lombikok esetén 1–2 ml-t, T75-ös lombikok esetén pedig 2,5 ml-t használva. Hagyja a sejteket szobahőmérsékleten 8–10 percig inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverje össze a sejteket 10 ml tápközeggel, hogy újra szuszpendálódjanak, majd centrifugálja őket 300×g-n 3 percig. Öntse le a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápközegben, és helyezze át őket olyan új lombikokba, amelyek már friss tápközegzet tartalmaznak.

HT55 sejtek | 305018

Split ratio 1-5

Seeding density $1-3 \times 10^4$ sejt/cm²

Fluid renewal 2-3 naponta

Freeze medium Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150 °C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37 °C-os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a krioümlékét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtszuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet 300 x g-n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejtet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejtvonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, párasított légkör.

HT55 sejtek | 305018

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C -on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA