

HT-29 sejtek | 300215

Általános információk

Description

A HT-29 sejtvonal, amely egy II. fokú humán kolorektális adenokarcinómából származik, a humán vastagbélrák tanulmányozásának egyik sarokköve. Az 1964-ben egy 44 éves nő elsődleges daganatából származó HT-29 sejtek nagyban hozzájárultak a rákos sejtek adhéziós vagy inváziós mechanizmusainak megértéséhez. Humán adenokarcinóma sejtvonalként a HT-29 sejtek olyan tulajdonságokkal rendelkeznek, amelyek szorosan utánozzák az érett bélsejtek, például az enterociták tulajdonságait, ami aláhúzza hasznosságukat a táplálékemésztés és a tápanyagok biológiai hozzáférhetőségének dinamikájának feltárásában.

A HT-29 sejtek érzékenyek a hagyományos vastagbélrák kemoterápiákra, beleértve az 5-fluorouracilt és az oxaliplatint. Ez az érzékenység, valamint az a képességük, hogy meghatározott körülmények között, például glükózmegvonás vagy olyan induktorokkal való kezelés, mint a butirát, differenciálódási útvonalakat fejlesztenek ki, felbecsülhetetlen értékű modellt teszi őket a sejtek differenciálódásának és a rák progressziójának hátterében álló molekuláris mechanizmusok vizsgálatára.

A HT-29 sejteket továbbá xenograft tumormodellként is használták, ami olyan in vivo vizsgálatokhoz nyújt platformot, amelyek utánozzák a tumor emberi szervezetben való viselkedését. Ez az alkalmazás lehetővé teszi a tumor növekedésének, az áttétképződésnek és a terápiás szerek hatékonyságának in vivo helyzetekben történő feltárását.

Összefoglalva, a HT-29 sejtvonal kulcsfontosságú eszköz az orvosi és biológiai kutatásokban, elősegítve a humán vastagbél adenokarcinóma mélyebb megértését, a rákos sejtek differenciálódásának molekuláris alapjait és a hatékony rákkezelések kifejlesztését.

Organism Emberi

Tissue Vastagbél

Disease Adenokarcinóma

Synonyms HT 29, HT29

Jellemzők

Age 44 év

Gender Női

Ethnicity Kaukázusi

Morphology Epithelszerű

Growth properties Adherent

HT-29 sejtek | 300215

Szabályozási adatok

Citation	HT-29 (Cytion katalógusszám: 300215)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0320

Biomolekuláris adatok

Receptors expressed	Urokináz receptor (u-PAR), D-vitamin (mérsékelt expresszió), nincs kimutatható plazminogén aktivátor aktivitás.
Protein expression	CEA negatív, p53 pozitív
Antigen expression	A vércsoport, Rh+, HLA A1, A3, B12, B17, Cw5, CD4 -, galaktóz-szferamid (a HIV lehetséges alternatív receptora) sejt felszíni expressziója
Isoenzymes	Me-2, 1, PGM3, 1-2, PGM1, 1-2, ES-D, 1, AK-1, 1, GLO-1, 1-2, G6PD, B, Fenotípus gyakorisági termék: 0.0230
Oncogenes	Myc+, ras+, myb+, fos+, sis+, p53+, abl -, ros -, src -, abl -, ros -, src -
Tumorigenic	Igen, meztelen egereken. Jól differenciált adenokarcinómát képez, amely megfelel a vastagbél elsődleges (I. fokozatú) daganatának, szteroiddal kezelt hörcsögökben is képződik
Virus susceptibility	Humán immunhiányos vírus (HIV, LAV)
Products	IgA szekréciós összetevője, karcinoembrió antigén (CEA), transzformáló növekedési faktor béta kötő fehérje, mucin, A p53 antigén túltermelődik
Karyotype	A törzsvonal kromoszómaszáma hipertriploid, a 2S komponens 2,4%-ban fordul elő. Tizenhét marker kromoszóma található a legtöbb metafázisban, általában kromoszómánként egyetlen példányban. A markerek jelölései a következők: M1p-(=t(3p-,?) egy törölt rövid karral), 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+ és xq-. A 13-as kromoszóma nullizomikus, a 8-as és 14-es kromoszómák pedig általában monoszomikusak. QM sávelemzéssel nem mutattak ki Y kromoszómát.

A kezelése

HT-29 sejtek | 300215

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (Cytion cikkszám: 820100a)
Supplements	A táptalajt 10% FBS-szel és 1% NEAA-val kell kiegészíteni
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	24 óra
Subculturing	Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.
Seeding density	3×10^4 sejt/cm ²
Fluid renewal	hetente 2-3 alkalommal
Post-Thaw Recovery	Lassú, a sejteknek nagyjából 48 órára van szükségük ahhoz, hogy letelepedjenek és megtapadjanak.
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 krioindukált stressz csökkentése érdekében.

HT-29 sejtek | 300215

**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 $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ -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 kriofülkét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 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 sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

Nincs

**Freezing
Procedure**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

**Shipping
Conditions**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

HT-29 sejtek | 300215

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

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.

HLA allélok

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