

HCT116 sejtek | 300195

Általános információk

Description

A vastagbélrákos betegből izolált HCT116 sejtek kulcsfontosságú szerepet játszanak a terápiás vizsgálatokban és a gyógyszereszközökben, különösen a vastagbélrák kutatásában. A HCT-116 sejtek a KRAS proto-onkogén 13-as kodonjában található mutációról ismertek, ami kiemeli hasznosságukat a génterápiás kutatásokban, különösen mivel vírusvektorokkal történő transzfekcióra alkalmasak. Az apoptózis kutatásában a HCT116 sejtek kulcsfontosságúak az apoptózis és a sejthalál mechanizmusainak tanulmányozásában.

A butirát, egy rövid szénláncú zsírsav hatását széles körben vizsgálták HCT116 sejteken, és kiderült, hogy a butirát apoptózis indukálásával gátolja a vastagbélrák proliferációját, ami rávilágít a bonyolult rák-sejt kölcsönhatásra és a rákkutatás szélesebb körű következményeire. A butirát szerepe a génexpressziós változások modulálásában és az endoplazmatikus retikulum stresszválasz indukálásában a HCT116 sejtekben aláhúzza a vastagbélrákos sejtvonalak sejtkomplexitását.

A HCT116 vastagbélráksejtek és az olyan terápiás szerek közötti kölcsönhatás, mint a metformin, amely örökölt hatásáról és a rákkockázat csökkentésének lehetőségéről ismert, jelentős érdeklődésre tart számot. A metformin hatása a HCT116 vastagbélsejtek proliferációjára, a p21 fehérjeszint modulációjára, valamint a proliferációra és növekedésre gyakorolt tágabb értelemben vett hatásai betekintést nyújtanak a primer tumorok kezelésébe, valamint a daganatok és áttétek megelőzésébe.

A HCT116 sejtek felbecsülhetetlen értékűek az onkológiai kutatások számára, mivel kritikus betekintést nyújtanak a terápiák hatékonyságába és a rák progressziójának molekuláris dinamikájába. A figyelemre méltó KRAS-mutációval és a transzfekcióra való fogékonysággal ezek a sejtek megkönnyítik a génterápiás vizsgálatokat, az apoptózis elemzését, valamint a vastagbélrák kezelését és megelőzési stratégiáit.

Organism

Emberi

Tissue

Colorectalis

Disease

Adenokarcinóma

Synonyms

HCT-116, HCT.116, HCT_116, HCT 116, HCT 116, CoCL2

Jellemzők

Age

48 év

Gender

Férfi

Ethnicity

Kaukázusi

Morphology

Epithelszerű

HCT116 sejtek | 300195

Growth properties

Adherent

Szabályozási adatok

Citation

HCT116 (Cytion katalógusszám: 300195)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

CellosaurusAccession

CVCL_0291

Biomolekuláris adatok

Antigen expression

A sejtek immunoperoxidáz festéssel keratinra pozitívak. A HCT 116 sejtek pozitívak a transzformáló növekedési faktor béta 1 (TGF béta 1) és béta 2 (TGF béta 2) expressziójára.

Tumorigenic

Igen, meztelen egerekben (5-10 x 10⁶ sejt beoltása)

Ploidy status

Aneuploid

MSI-status

Instabil (MSI-magas)

Karyotype

A HCT116 sejtek kariotípusa közel diploid, a sejtek 70%-a 45 kromoszómát tartalmaz, gyakran a 8., 10., 16. és 17. kromoszómák felülreprezentáltságát mutatja a hosszú karokon, valamint az Y-kromoszóma hiányát.

A kezelése

Culture Medium

McCoy's 5a, w: 3,0 g/L glükóz, w: stabil glutamin, w: 2,0 mM nátrium-piruvát, w: 2,2 g/L NaHCO₃ (Cytion cikkszám: 820200a)

Supplements

A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel

Dissociation Reagent

Accutase

Doubling time

25-35 óra

HCT116 sejtek | 300195

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 $2 \times 10^4 \text{ sej}/\text{cm}^2$

Fluid renewal hetente 1-2 alkalommal

Post-Thaw Recovery 3 nap

Freeze medium Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kioltás 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.

HCT116 sejtek | 300195

**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 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°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°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°C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

HCT116 sejtek | 300195**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 és molekuláris elemzés**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, '02:01:01

B*: '18:01:01, '21:01:01

C*: '05:01:01, '07:01:01

DRB1*: '03:01:01, '11:02:01

DQA1*: '05:01:01, '05:05:01

DQB1*: '02:01:01, '03:19:01

DPB1*: '03:01:01G, '04:02:01G

E: '01:01, '01:03