Product sheet

Cellule HT-29 | 300215

Informazioni generali

Description	La linea cellulare HT-29, derivata da un adenocarcinoma colorettale umano di grado II, rappresenta un modello di ricerca fondamentale nello studio dei tumori del colon umani. Derivate da un tumore primario di una donna di 44 anni nel 1964, le cellule HT22 sono state fondamentali per la comprensione dei meccanismi di adesione e invasione delle cellule tumorali. Come linea cellulare di adenocarcinoma umano, le cellule HT-29 presentano caratteristiche che imitano da vicino quelle delle cellule intestinali mature, come gli enterociti, sottolineando la loro utilità nell'esplorare le dinamiche della digestione del cibo e della biodisponibilità dei nutrienti. Le cellule HT-29 sono sensibili ai chemioterapici convenzionali per il cancro colorettale, tra cui il 5-fluorouracile e l'oxaliplatino. Questa sensibilità, unita alla loro capacità di esprimere percorsi di differenziazione in condizioni specifiche, come la privazione di glucosio o il trattamento con induttori come il butirrato, le rende un modello prezioso per studiare i meccanismi molecolari alla base del differenziamento cellulare e della progressione del cancro. Inoltre, le cellule HT-29 sono state utilizzate come modello di xenotrapianto tumorale, fornendo una piattaforma per studi in vivo che imitano il comportamento del tumore nel corpo umano. Questa applicazione consente di esplorare la crescita del tumore, le metastasi e l'efficacia degli agenti terapeutici in situazioni in vivo. In sintesi, la linea cellulare HT-29 è uno strumento fondamentale per la ricerca medica e biologica, che facilita una comprensione più approfondita dell'adenocarcinoma del colon umano, delle basi molecolari della differenziazione delle cellule tumorali e dello sviluppo di trattamenti antitumorali efficaci.
Organism	Umano
Tissue	Colon
Disease	Adenocarcinoma
Synonyms	HT 29, HT29

Caratteristiche

Age	44 anni
Gender	Donna
Ethnicity	Caucasico
Morphology	Simile all'epitelio
Growth properties	Aderente

Product sheet

Cellule HT-29 | 300215

Dati normativi

Citation	HT-29 (numero di catalogo Cytion 300215)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0320

Dati biomolecolari

Receptors expressed	Recettore dell'urochinasi (u-PAR), vitamina D (espressione moderata), nessuna attività di attivatore del plasminogeno rilevabile.
Protein expression	CEA negativo, p53 positivo
Antigen expression	Gruppo sanguigno A, Rh+, HLA A1, A3, B12, B17, Cw5, CD4 -, espressione della superficie cellulare del galattosio ceramide (un possibile recettore alternativo per l'HIV)
Isoenzymes	Me-2, 1, PGM3, 1-2, PGM1, 1-2, ES-D, 1, AK-1, 1, GLO-1, 1-2, G6PD, B, Prodotto di frequenza del fenotipo: 0.0230
Oncogenes	Myc+, ras+, myb+, fos+, sis+, p53+, abl -, ros -, src -
Tumorigenic	Sì, in topi nudi. Forma un adenocarcinoma ben differenziato coerente con il primitivo del colon (grado I); si formano tumori anche in criceti trattati con steroidi
Virus susceptibility	Virus dell'immunodeficienza umana (HIV, LAV)
Products	Componente secretoria di IgA, antigene carcinoembrionale (CEA), proteina legante il fattore di crescita beta trasformante, mucina, L'antigene p53 è iperprodotto
Karyotype	Il numero di cromosomi della linea staminale è ipertriploide, con la componente 2S presente al 2,4%. Nella maggior parte delle metafasi si trovano diciassette cromosomi marcatori, generalmente in copia singola per cromosoma. Le denominazioni dei marcatori sono: M1p-(=t(3p-,?) con un braccio corto cancellato), 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+ e xq-. Il cromosoma 13 è nullisomico e i cromosomi 8 e 14 sono generalmente monosomici. L'analisi delle bande QM non ha rilevato alcun cromosoma Y.

Manipolazione

Cellule HT-29 | 300215

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamina, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (articolo Cytion numero 820100a)
Supplements	Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS e l'1% di NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	24 ore
Subculturing	Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.
Split ratio	Si consiglia un rapporto da 1:3 a 1:8
Seeding density	3×10^4 cellule/cm^2
Fluid renewal	da 2 a 3 volte alla settimana
Post-Thaw Recovery	Lentamente, le cellule hanno bisogno di circa 48 ore per depositarsi e aderire.
Freeze medium	Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelamento, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

Cellule HT-29 | 300215

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, atmosfera umidificata.

Flask Coating

Nessuno

Freezing Procedure

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Storage Conditions	Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo qualità e analisi molecolare

Sterility	La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza. Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.
Profilo STR	**Amelogenin**: x,x **CSF1PO**: 11,12 **D13S317**: 11 **D16S539**: 11,12 **D5S818**: 11,12 **D7S820**: 10 **TH01**: 6,9 **TPOX**: 8,9 **vWA**: 17,19 **D3S1358**: 15,17 **D21S11**: 29,30 **D18S51**: 13 **Penta E**: 14,16 **Penta D**: 11,13 **D8S1179**: 10 **FGA**: 20,22
Alleli HLA	**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