

## HT55 ląstelės | 305018

## Bendra informacija

## Description

HT55 – tai žmogaus tiesiosios žarnos adenokarcinomos ląstelių linija, išskirta iš 54 metų amžiaus kaukazietės pirminio tiesiosios žarnos naviko. Ši linija auga kaip prisitvirtinęs monosluoksnis, pasižymintis epitelio tipo morfologija. HT55 turi daug heterozigotinių ir homozigotinių funkcijos praradimo mutacijų APC (adenomatozinės polipozės) naviko slopinančiame gene, įskaitant p.Gln1131Ter, p.Gln1303Ter, p.Arg1463Ser, p.Asn581Tyr ir p.Lys241Ter (visos heterozigotinės), taip pat homozigotinę p.Arg213Leu substituciją. Šis mutacijų profilis daro HT55 biologiniu požiūriu aktualiu APC sukeltos kolorektalinės karcinogenezės modeliu, atspindinčiu kanoninio WNT signalo kelio disreguliaciją, kuri lemia daugumą žmogaus kolorektalinių vėžių.

HT55 plačiai naudojama kolorektalinio vėžio tyrimuose, skirtuose WNT/ $\beta$ -katenino signalizacijos, APC naviko slopintojo funkcijos, jautrumo vaistams ir atsparumo jiems tyrimams, taip pat tikslinio poveikio preparatų, nukreiptų prieš WNT signalo kelio komponentus, ikiklinikiniam vertinimui. Ši linija tinka in vitro farmakologiniams tyrimams ir ksenotransplantatų tyrimams imunokompromituotuose pelių modeliuose, suteikdama adhezyvią, lengvai valdomą in vitro platformą mechanistiniams ir translaciniams kolorektalinio vėžio tyrimams. Dėl daugybės APC truncačių mutacijų HT55 yra tipiškas mikrosatelitų atžvilgiu stabilus, chromosomų atžvilgiu nestabilus storosios žarnos vėžio potipio, kurį dažniausiai sukelia APC funkcijos praradimas, pavyzdys.

## Organism

Žmogus

## Tissue

Tiesioji žarna

## Disease

Adenokarcinoma

## Applications

Kolorektalinio vėžio tyrimai; WNT/APC signalo kelio tyrimai; vaistų jautrumo ir atsparumo tyrimai; ikiklinikinė onkologija; ksenotransplantacijos modeliai; tikslinės terapijos vertinimas

## Synonyms

HT55

## Charakteristikos

## Age

54 metai

## Gender

Moteris

## Ethnicity

Kaukaziečių

## Morphology

Į epitelį panašus

## Cell type

Epitelio ląstelės

## HT55 ląstelės | 305018

## Growth properties

Priglundės

## Reguliavimo duomenys

**Citation** HT55 (Cytion katalogo numeris 305018)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_1294

## Biomolekuliniai duomenys

**Mutational profile** Mutacija: p.Gln1131Ter, heterozigotinė; Mutacija: p.Gln1303Ter, heterozigotinė; Mutacija: p.Arg1463Ser, heterozigotinė; Mutacija: p.Asn581Tyr, heterozigotinė; Mutacija: p.Lys241Ter, heterozigotinė; Mutacija: p.Arg213Leu, homozigotė

## Tvarkymas

**Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutaminas, w: 2,2 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: EBSS (Cytion gaminio numeris 820100a)**Supplements** Papildykite terpę 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 28 valandos**Subculturing** Pašalinkite seną terpę nuo prisitvirtinusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS tirpalu be kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3–5 ml PBS, o T75 kolboms – 5–10 ml. Tada ląsteles visiškai užpilkite „Accutase“ tirpalu – T25 kolboms naudokite 1–2 ml, o T75 kolboms – 2,5 ml. Palikite ląsteles inkubuoti kambario temperatūroje 8–10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos ląsteles švelniai sumaišykite su 10 ml terpės, kad jos vėl susidarytų suspensiją, tada centrifuguokite 300×g greičiu 3 minutes. Supernatantą išpilkite, ląsteles vėl suspenduokite šviežioje terpėje ir perkelti į naujus kolbelius, kuriuose jau yra šviežia terpė.**Split ratio** 1–5**Seeding density**  $1-3 \times 10^4$  ląstelės/cm<sup>2</sup>

## HT55 ląstelės | 305018

## Fluid renewal

Kas 2-3 dienas

## Freeze medium

Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

## Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei  $-150^{\circ}\text{C}$  temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į  $37^{\circ}\text{C}$  temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanolio.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite  $300 \times g$  greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

## Incubation Atmosphere

 $37^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , drėkintoje atmosferoje.

## Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug  $-78^{\circ}\text{C}$  temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

## HT55 ląstelės | 305018

### **Storage Conditions**

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje.  
Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

## **Kokybės kontrolė ir molekulinė analizė**