

HCT-8 (HRT-18) ląstelės | 300210**Bendra informacija****Description**

HCT-8 ląstelės, taip pat žinomos kaip žmogaus ileocelinės kolorektalinės adenokarcinomos ląstelės, yra epitelinių ląstelių linija, iš pradžių gauta iš 67 metų kaukaziško paciento, sergančio ileoceline adenokarcinoma. HCT-8 ląstelių linija buvo sukurta XX a. septintojo dešimtmečio pabaigoje ir plačiai naudojama vėžio tyrimams, ypač tiriant storosios žarnos vėžio patogenezę, metastazes ir atsaką į gydymą.

Morfologiškai HCT-8 ląstelės yra panašios į epitelines ir pasižymi daugiakampio formos viensluoksniu augimo modeliu. Jos gali augti tiek adherentinėse, tiek pusiau suspenduotose kultūrose, o tai būdinga kai kurioms pereinamosioms vėžio ląstelių metastazavimo stadijoms. Dėl šios savybės jos ypač naudingos atliekant tyrimus, susijusius su vėžio ląstelių invazija ir migracija.

Genotipiškai HCT-8 ląstelės yra hipertriploidinės, jose yra keletas chromosomų aberacijų, būdingų storosios žarnos karcinomams, įskaitant mutacijas ir delecijas, kurios yra svarbios vėžio progresavimui ir atsparumo mechanizmams. Toks genetinis profilis padeda jas naudoti onkologiniuose tyrimuose, ypač tuose, kuriuose daugiausia dėmesio skiriama genetiniams keliams, susijusiems su naviko geneze ir atsparumu vaistams.

Tyrimai, kuriuose naudojamos HCT-8 ląstelės, labai prisidėjo prie storosios žarnos vėžio biologijos supratimo, įskaitant vėžio ląstelių proliferacijos, apoptozės ir chemorezistentiškumo molekulinį kelių išaiškinimą. Ši ląstelių linija ir toliau išlieka svarbiu modeliu tiriant naujų terapinių preparatų veiksmingumą ir nagrinėjant molekulinį kolorektalinio vėžio mechanizmus.

Organism Žmogus**Tissue** Tiesioji žarna**Disease** Adenokarcinoma**Synonyms** HCT 8, HCT8**Charakteristikos****Age** 67 metai**Gender** Vyras**Morphology** Į epitelį panašus**Growth properties** Prigludęs**Reguliavimo duomenys**

HCT-8 (HRT-18) ląstelės | 300210**Citation** HCT-8 (Cytion katalogo numeris 300210)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_2478**Biomolekuliniai duomenys****Antigen expression** CDx (+/-), CDy (-),**Isoenzymes** AK-1, 1, ES-D, 1-2, GLO-1, 2, G6PD, B, PGM1, 1, PGM3, 1, Me-2, 1**Tumorigenic** Su nuogomis pelėmis**Viruses** Atvirkštinė transkriptazė neigiama**Products** Karcinoembrioninis antigenas (CEA) 0,5 ng/10 eksp6 ląstelių/10 dienų, šarminė fosfatazė, keratinas**Mutational profile** HRT-18 ląstelėse yra Kras geno 13 kodono mutacija: GGC(Wt Gly) >GAC(Asp)**Tvarkymas****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l gliukozės, w: 2,5 mM L-glutamino, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natrio piruvato, w: 1,2 g/l NaHCO₃ (Cytion gaminio numeris 820400a)**Supplements** Papildykite terpę 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 15 valandų**Subculturing** Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkeltite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.

HCT-8 (HRT-18) ląstelės | 300210

Seeding density 2–4 x 10⁴ ląstelės/cm²

Fluid renewal 2-3 kartus per savaitę

Post-Thaw Recovery Greitai

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 °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 °C temperatūros vandens vonelę su švari 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 % etanoliu.
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 x 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 perkelti 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 °C, 5 % CO₂, drėkintoje atmosferoje.

HCT-8 (HRT-18) ląstelės | 300210

Flask Coating Nėra

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkeltite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkeltite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

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 perkeltiant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.

HLA aleliai

A*: '02:01:01, '24:02:01

B*: '08:01:01, '35:01:01

C*: '04:01:01, '07:01:01

DRB1*: '03:01:01, '14:54:01

DQA1*: '01:04:01, '05:01:01

DQB1*: '02:01:01, '05:03:01

DPB1*: '01:01:01, '04:01:01

E: '01:03:02, '01:xx