Product sheet

HT-29 ląstelės | 300215

Bendra informacija

Description	HT-29 ląstelių linija, gauta iš II laipsnio žmogaus storosios žarnos adenokarcinomos, yra kertinis žmogaus storosios žarnos vėžio tyrimų modelis. HT22 ląstelės, gautos 1964 m. iš 44 metų moters pirminio naviko, padėjo geriau suprasti vėžinių ląstelių sukibimo ir invazijos mechanizmus. HT-29 ląstelės, kaip žmogaus adenokarcinomos ląstelių linija, pasižymi savybėmis, kurios labai panašios į subrendusių žarnyno ląstelių, pavyzdžiui, enterocitų, savybes, todėl jos yra naudingos tiriant maisto virškinimo ir maistinių medžiagų biologinio prieinamumo dinamiką. HT-29 ląstelės yra jautrios įprastinei storosios žarnos vėžio chemoterapijai, įskaitant 5-fluorouracilą ir oksaliplatiną. Dėl šio jautrumo ir gebėjimo išreikšti diferenciacijos kelius tam tikromis sąlygomis, pavyzdžiui, netekus gliukozės arba gydant tokiais induktoriais kaip butiratas, šios ląstelės yra neįkainojamas modelis tiriant ląstelių diferenciaciją ir vėžio progresavimą lemiančius molekulinius mechanizmus. Be to, HT-29 ląstelės buvo naudojamos kaip ksenografinis naviko modelis, suteikiantis galimybę atlikti in vivo tyrimus, imituojančius naviko elgseną žmogaus organizme. Tai leidžia tirti naviko augimą, metastazes ir gydomųjų medžiagų veiksmingumą in vivo. Apibendrinant galima teigti, kad HT-29 ląstelių linija yra pagrindinė medicinos ir biologinių tyrimų priemonė, padedanti geriau suprasti žmogaus storosios žarnos adenokarcinomą, vėžinių ląstelių diferenciacijos molekulinius pagrindus ir kurti veiksmingus vėžio gydymo metodus.
Organism	Žmogus
Tissue	Storosios žarnos
Disease	Adenokarcinoma
Synonyms	HT 29, HT29

Charakteristikos

Age	44 metai
Gender	Moteris
Ethnicity	Kaukaziečių
Morphology	Į epitelį panašus
Growth properties	Prigludęs

HT-29 ląstelės | 300215

Reguliavimo duomenys

Citation	HT-29 (Cytion katalogo numeris 300215)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0320

Biomolekuliniai duomenys

Receptors expressed	Urokinazės receptorius (u-PAR), vitaminas D (vidutinė raiška), plazminogeno aktyvatoriaus aktyvumo neaptinkama.
Protein expression	CEA neigiamas, p53 teigiamas
Antigen expression	A kraujo tipas, Rh+, HLA A1, A3, B12, B17, Cw5, CD4 -, galaktozės keramido (galimo alternatyvaus ŽIV receptoriaus) raiška ląstelių paviršiuje
Isoenzymes	Me-2, 1, PGM3, 1-2, PGM1, 1-2, ES-D, 1, AK-1, 1, GLO-1, 1-2, G6PD, B, Fenotipo dažnio produktas: 0.0230
Oncogenes	Myc+, ras+, myb+, fos+, sis+, p53+, abl -, ros -, src -
Tumorigenic	Taip, nuogoms pelėms. Formuojasi gerai diferencijuota adenokarcinoma, atitinkanti pirminę storosios žarnos adenokarcinomą (I laipsnio), navikai taip pat formuojasi steroidais gydomiems žiurkėnams
Virus susceptibility	Žmogaus imunodeficito virusas (ŽIV, LAV)
Products	IgA sekrecinis komponentas, karcinoembrioninis antigenas (CEA), transformuojančio augimo faktoriaus beta jungiamasis baltymas, mucinas, p53 antigeno perprodukcija
Karyotype	Kamieninių chromosomų skaičius yra hipertriploidinis, o 2S komponentas sudaro 2,4 %. Daugumoje metafazių randama septyniolika žyminių chromosomų, dažniausiai po vieną kopiją kiekvienoje chromosomoje. Žymenų pavadinimai yra šie: M1p-(=t(3p-,?) su pašalintu trumpuoju raumeniu), 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+ ir xq-. 13 chromosoma yra nulisominė, o 8 ir 14 chromosomos paprastai yra monosominės. Atlikus QM juostų analizę, Y chromosomos neaptikta.

Tvarkymas

HT-29 ląstelės | 300215

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutaminas, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (Cytion gaminio numeris 820100a)
Supplements	Papildykite terpę 10 % FBS ir 1 % NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	24 valandos
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 perkelkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.
Seeding density	3 x 10^4 ląstelės/cm^2
Fluid renewal	2-3 kartus per savaitę
Post-Thaw Recovery	Lėtai, ląstelėms įsikurti ir prilipti reikia maždaug 48 valandų.
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.

HT-29 ląstelės | 300215

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 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 % 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 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 °C, 5 % $_{CO2}$, drėkintoje atmosferoje.
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 perkelkite 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 perkelkite 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 perkeliant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė ir molekulinė analizė

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***: '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