

HT55 šūnas | 305018

Vispārīga informācija

Description

HT55 ir cilvēka taisnās zarnas adenokarcinomas šūnu līnija, kas izveidota no 54 gadus vecas kaukāziešu izcelsmes sievietes primārā taisnās zarnas audzēja. Šī līnija aug kā pieklāvusies monoslānis ar epitēlijam līdzīgu morfoloģiju. HT55 nes vairākas heterozigotas un homozigotas funkcijas zuduma mutācijas APC (adenomatozā kolu polipoze) audzēja supresoru gēnā, tostarp p.Gln1131Ter, p.Gln1303Ter, p.Arg1463Ser, p.Asn581Tyr un p.Lys241Ter (visas heterozigotiskas), kā arī homozigotisku p.Arg213Leu aizvietošanu. Šīs mutāciju profils padara HT55 par bioloģiski nozīmīgu APC-inducētas kolorektālās karcinogēzes modeli, atspoguļojot kanoniskā WNT signālceļa disregulāciju, kas ir galvenais faktors lielākajā daļā cilvēku kolorektālo vēžu.

HT55 tiek plaši izmantota kolorektālā vēža pētījumos, lai izpētītu WNT/ β -katenīna signālceļu, APC audzēja supresora funkciju, jutību pret zālēm un rezistenci, kā arī veiktu mērķtiecīgu līdzekļu pret WNT signālceļa komponentiem pirmsklīnisko novērtējumu. Šī līnija ir piemērota in vitro farmakoloģiskajiem testiem un ksenotransplantātu pētījumiem imūndeficīta peles modeļos, nodrošinot adhezīvu, viegli pārvaldāmu in vitro platformu kolorektālā vēža mehānismu un translacionālajiem pētījumiem. Daudzo APC truncācijas mutāciju klātbūtne padara HT55 par reprezentatīvu mikrosatelītu stabilā, hromosomāli nestabilā kolorektālā vēža apakštipa paraugu, ko parasti izraisa APC funkcijas zudums.

Organism

Cilvēks

Tissue

Taisnā zarna

Disease

Adenokarcinoma

Applications

Kolorektālā vēža pētījumi; WNT/APC signālceļa pētījumi; zāļu jutības un rezistences testēšana; pirmsklīniskā onkoloģija; ksenotransplantātu modeļi; mērķtiecīgas terapijas novērtēšana

Synonyms

HT55

Raksturojums

Age

54 gadi

Gender

Sievietes

Ethnicity

Kaukāzietis

Morphology

Epitēlijveidīgs

Cell type

Epitēlija šūnas

Growth properties

Adherent

HT55 šūnas | 305018

Normatīvie dati

Citation	HT55 (Cytion kataloga numurs 305018)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1294

Biomolekulārie dati

Mutational profile	Mutācija: p.Gln1131Ter, heterozigota; Mutācija: p.Gln1303Ter, heterozigota; Mutācija: p.Arg1463Ser, heterozigota; Mutācija: p.Asn581Tyr, heterozigota; Mutācija: p.Lys241Ter, heterozigota; Mutācija: p.Arg213Leu, homozigota
--------------------	---

Darbs ar

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-glutamīns, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (Cytion izstrādājuma numurs 820100a)
Supplements	Papildināt barotni ar 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	28 stundas
Subculturing	No pieklāvušajām šūnām noņemiet veco barotni un noskalojiet tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3–5 ml PBS, bet T75 kolbām — 5–10 ml. Pēc tam šūnas pilnībā pārklāji ar Accutase, izmantojot 1–2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8–10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas šūnas viegli sajauciet ar 10 ml barotnes, lai tās atkal suspendētu, pēc tam centrifugējiet 300×g 3 minūtes. Izlejiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārnēsiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.
Split ratio	no 1 līdz 5
Seeding density	1 līdz 3 x 10 ⁴ šūnas/cm ²
Fluid renewal	Ik pēc 2 līdz 3 dienām

HT55 šūnas | 305018

Freeze medium

Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnēsiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnēsāt vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%_{CO2}, mitrināta atmosfēra.

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

HT55 šūnas | 305018

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole un molekulārā analīze