

## HT-29 šūnas | 300215

## Vispārīga informācija

## Description

HT-29 šūnu līnija, kas iegūta no II pakāpes cilvēka resnās zarnas adenokarcinomas, ir stūrakmens pētniecības modelis cilvēka resnās zarnas vēža izpētē. HT22 šūnas, kas iegūtas no primārā audzēja 44 gadus vecai sievietei 1964. gadā, ir palīdzējušas labāk izprast vēža šūnu adhēzijas vai invazijas mehānismus. Kā cilvēka adenokarcinomas šūnu līnijai HT-29 šūnām piemīt īpašības, kas ļoti līdzinās nobriedušām zarnu šūnām, piemēram, enterocītiem, tādējādi uzsverot to lietderību pārtikas sagremošanas un barības vielu biopieejamības dinamikas izpētē.

HT-29 šūnas ir jutīgas pret parasto kolorektālā vēža ķīmijterapiju, tostarp 5-fluoruracilu un oksaliplatīnu. Šī jutība kopā ar to spēju izteikt diferenciācijas ceļus īpašos apstākļos, piemēram, glikozes trūkuma vai ārstēšanas ar tādiem induktoriem kā butirāts, padara tās par nenovērtējamu modeli šūnu diferenciācijas un vēža progresēšanas molekulāro mehānismu izpētei.

Turklāt HT-29 šūnas ir izmantotas kā ksenotransplantāta audzēja modelis, nodrošinot platformu pētījumiem in vivo, kas imitē audzēja uzvedību cilvēka organismā. Šis pielietojums ļauj pētīt audzēja augšanu, metastāzes un terapeitisko līdzekļu efektivitāti in vivo situācijās.

Rezumējot, HT-29 šūnu līnija ir būtisks medicīnas un bioloģijas pētījumu rīks, kas veicina dziļāku izpratni par cilvēka resnās zarnas adenokarcinomu, vēža šūnu diferenciācijas molekulāro pamatu un efektīvu vēža ārstēšanas metožu izstrādi.

**Organism** Cilvēks

**Tissue** Resnās zarnas

**Disease** Adenokarcinoma

**Synonyms** HT 29, HT29

## Raksturojums

**Age** 44 gadi

**Gender** Sievietes

**Ethnicity** Kaukāzietis

**Morphology** Epitēlijveidīgs

**Growth properties** Adherent

## HT-29 šūnas | 300215

## Normatīvie dati

<b>Citation</b>	HT-29 (Cytion kataloga numurs 300215)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_0320

## Biomolekulārie dati

<b>Receptors expressed</b>	Urokināzes receptoru (u-PAR), D vitamīna (mērena ekspresija), nav nosakāma plazminogēna aktivatora aktivitāte.
<b>Protein expression</b>	CEA negatīvs, p53 pozitīvs
<b>Antigen expression</b>	A asinsgrupa, Rh+, HLA A1, A3, B12, B17, Cw5, CD4 -, galaktozes keramīda (iespējams, alternatīvs HIV receptors) ekspresija šūnu virsmā
<b>Isoenzymes</b>	Me-2, 1, PGM3, 1-2, PGM1, 1-2, ES-D, 1, AK-1, 1, GLO-1, 1-2, G6PD, B, Fenotipu biežuma produkts: 0.0230
<b>Oncogenes</b>	Myc+, ras+, myb+, fos+, sis+, p53+, abl -, ros -, src -
<b>Tumorigenic</b>	Jā, kailām pelēm. Veidojas labi diferencēta adenokarcinoma, kas atbilst resnās zarnas primārajai (I pakāpe), audzēji veidojas arī ar steroīdiem ārstētiem kāmjiem
<b>Virus susceptibility</b>	Cilvēka imūndeficīta vīruss (HIV, LAV)
<b>Products</b>	IgA, karcīnoembrionālā antigēna (CEA), transformējošā augšanas faktora beta saistošā proteīna, mucīna, p53 antigēna pārprodukcija
<b>Karyotype</b>	Cilmes līnijas hromosomu skaits ir hipertriploīds, un 2S komponents ir 2,4 %. Lielākajā daļā metafāžu ir 17 marķieru hromosomu, parasti katrā hromosomā ir viena kopija. Marķieru apzīmējumi ir šādi: M1p-(=t(3p-,?) ar izdzēstu īso plecu), 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+ un xq-. Hromosoma 13 ir nullisomiska, un hromosomas 8 un 14 parasti ir monosomiskas. QM joslu analīzē netika konstatēta Y hromosoma.

## Darbs ar

## HT-29 šūnas | 300215

<b>Culture Medium</b>	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-glutamīns, w: 2,2 g/L NaHCO <sub>3</sub> , w: EBSS (Cytion izstrādājuma numurs 820100a)
<b>Supplements</b>	Papildināt barotni ar 10% FBS un 1% NEAA
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Doubling time</b>	24 stundas
<b>Subculturing</b>	Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas 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 uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.
<b>Seeding density</b>	$3 \times 10^4$ šūnas/cm <sup>2</sup>
<b>Fluid renewal</b>	2 līdz 3 reizes nedēļā
<b>Post-Thaw Recovery</b>	Lēnām šūnām ir nepieciešamas aptuveni 48 stundas, lai tās nostabilizētos un pieliptu.
<b>Freeze medium</b>	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.

## HT-29 šūnas | 300215

### 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  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to  $37^{\circ}\text{C}$  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 pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar  $300 \times g$  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 pārnest 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

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , mitrināta atmosfēra.

### Flask Coating

Neviens

### Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

## HT-29 šūnas | 300215

### Shipping Conditions

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

### 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 starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

## Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

### Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.

### HLA alēles

**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