Product sheet

HT-1376 šūnas | 305100

Vispārīga informācija

Description	HT-1376 šūnu līnija ir iegūta no cilvēka urīnpūšļa karcinomas, īpaši 3. pakāpes pārejas šūnu karcinomas. Šī šūnu līnija tika izveidota no audzēja, kas iegūts, veicot transuretrālo rezekciju pieaugušai pacientei, kurai bija invazīva urīnpūšļa karcinoma. HT-1376 šūnām piemīt epitēlija pazīmes, tostarp mikroviļi un tonofibrilles, kas norāda uz to epitēlija izcelsmi. Turklāt šīm šūnām ir vairākas marķieru hromosomas, kas tās atšķir no citām zināmajām audzēju šūnu līnijām. HT-1376 šūnas aug arī mīkstā agārā un ir ļoti tumorigēnas, veidojot audzējus, ja tās injicē imūnkompromitētām pelēm un kāmjiem. HT-1376 ir nozīmīga urīnpūšļa vēža pētniecībā, jo tās ģenētiskais profils ietver ievērojamas izmaiņas 9p21 hromosomu reģionā. Šajā reģionā bieži vien notiek lielas homozigotiskas delecijas, kas izraisa tādu kritiski svarīgu audzēja supresoru gēnu kā CDKN2, CDKN2B un MTAP inaktivāciju. Šādas delecijas ir izplatītas urīnpūšļa vēža gadījumā, un tās ir ļoti svarīgas, lai izprastu molekulāros mehānismus, kas ir audzēja rašanās pamatā. Piemēram, CDKN2 un CDKN2B zudums ir saistīts ar šūnas cikla traucējumiem, kas ir galvenais vēža progresēšanas faktors. Turklāt HT-1376 šūnās ir pētīta CDKN2 gēna CDKN2 produkta proteīna p16 ekspresija, kas bieži ir saistīta ar cita audzēja supresora proteīna pRb ekspresijas trūkumu. HT-1376 šūnu līniju izmanto arī virusoloģijas pētījumos, lai novērtētu audzēju vīrusu klātbūtni, lai gan šūnās nav konstatēta vīrusu ekspresija. Tas padara HT-1376 par vērtīgu modeli, lai pētītu urīnpūšļa vēža attīstības un progresēšanas mehānismus, kas nav saistīti ar vīrusiem. Šūnu līnijas ģenētiskās izmaiņas un tās spēja augt in vitro un in vivo nodrošina stabilu platformu pirmsklīniskajiem pētījumiem, tostarp zāļu testēšanai un jaunu terapeitisko stratēģiju izpētei, kas vērstas uz specifiskiem urīnpūšļa vēža ģenētiskajiem ceļiem.
Organism	Cilvēks
Tissue	Urīnpūslis
Disease	Urīnpūšļa karcinoma
Synonyms	HT1376, HT 1376, HT 1376.T

Raksturojums

Age	58 gadi
Gender	Sievietes
Ethnicity	Eiropas
Morphology	Epitēlija
Growth properties	Adherent

Product sheet

HT-1376 šūnas | 305100

Normatīvie dati

Citation	HT-1376 (Cytion kataloga numurs 305100)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1292

Biomolekulārie dati

Protein expression	Fibrinolītiskā aktivitāte, interferons
Tumorigenic	Jā

Darbs ar

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-glutamīns, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (Cytion izstrādājuma numurs 820100a)
Supplements	Papildināt barotni ar 10% FBS un 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	31 stunda
Subculturing	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.
Fluid renewal	2 līdz 3 reizes nedēļā
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.

HT-1376 šūnas | 305100

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 pārnesiet 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 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°C, 5% $_{CO2}$, mitrināta atmosfēra.
Flask Coating	Neviens
Freezing Procedure	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.

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.
Storage Conditions	Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpeklī 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

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.