

HT55-cellen | 305018

Algemene informatie

Description

HT55 is een menselijke rectale adenocarcinoomcellijn die is geïsoleerd uit de primaire rectale tumor van een 54-jarige blanke vrouw. De cellijn groeit als een hechtende monolaag met een epitheelachtige morfologie. HT55 draagt meerdere heterozygote en homozygote functieverliesmutaties in het APC-tumorsuppressorgen (adenomateuze polyposis coli), waaronder p.Gln1131Ter, p.Gln1303Ter, p.Arg1463Ser, p.Asn581Tyr en p.Lys241Ter (allemaal heterozygoot), evenals een homozygote p.Arg213Leu-substitutie. Dit mutatieprofiel maakt HT55 tot een biologisch relevant model van APC-gedreven colorectale carcinogenese, dat de ontregeling van de canonieke WNT-route weerspiegelt die de oorzaak is van het merendeel van de colorectale kankers bij de mens.

HT55 wordt op grote schaal gebruikt in onderzoek naar colorectale kanker voor studies naar WNT/ β -catenine-signalering, de tumorsuppressorfunctie van APC, gevoeligheid voor en resistentie tegen geneesmiddelen, en preklinische evaluatie van gerichte middelen tegen componenten van de WNT-route. De lijn is geschikt voor in-vitro-farmacologische testen en xenotransplantaatstudies in immuungecompromitteerde muismodellen en biedt daarmee een hechtend, hanteerbaar in-vitro-platform voor mechanistisch en translationeel onderzoek naar colorectale kanker. Door de aanwezigheid van meerdere APC-truncatiemutaties is HT55 representatief voor het microsatellietstabiele, chromosomaal instabiele subtype van colorectale kanker dat vaak wordt aangedreven door functieverlies van APC.

Organism

Mens

Tissue

Rectum

Disease

Adenocarcinoom

Applications

Onderzoek naar colorectale kanker; onderzoek naar de WNT/APC-route; testen op gevoeligheid en resistentie tegen geneesmiddelen; preklinische oncologie; xenotransplantaatmodellen; evaluatie van gerichte therapieën

Synonyms

HT55

Kenmerken

Age

54 jaar

Gender

Vrouw

Ethnicity

Kaukasisch

Morphology

Epitheelachtig

Cell type

Epitheelcellen

HT55-cellen | 305018

Growth properties

Aanhangend

Regelgevende gegevens

Citation HT55 (Cytion-catalogusnummer 305018)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1294

Biomoleculaire gegevens

Mutational profile Mutatie: p.Gln1131Ter, heterozygoot; Mutatie: p.Gln1303Ter, heterozygoot; Mutatie: p.Arg1463Ser, heterozygoot; Mutatie: p.Asn581Tyr, heterozygoot; Mutatie: p.Lys241Ter, heterozygoot; Mutatie: p.Arg213Leu, homozygoot

Omgaan met

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamine, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytion artikelnummer 820100a)**Supplements** Vul het medium aan met 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 28 uur**Subculturing** Verwijder het oude medium van de aanhechtende cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-kolven 3-5 ml PBS en voor T75-kolven 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase; gebruik hiervoor 1-2 ml voor T25-flessen en 2,5 ml voor T75-flessen. Laat de cellen 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Meng de cellen na de incubatie voorzichtig met 10 ml medium om ze opnieuw in suspensie te brengen, en centrifugeer ze vervolgens 3 minuten bij 300×g. Gooi het supernatant weg, breng de cellen opnieuw in suspensie in vers medium en breng ze over naar nieuwe flessen die al vers medium bevatten.**Split ratio** 1 tot en met 5

HT55-cellen | 305018

Seeding density 1 tot 3×10^4 cellen/cm²

Fluid renewal Om de 2 tot 3 dagen

Freeze medium Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimeidium (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan -150 °C om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van 37 °C met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij 300 x g om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, bevochtigde atmosfeer.

HT55-cellen | 305018

**Shipping
Conditions**

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

**Storage
Conditions**

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole en moleculaire analyse