Product sheet

HT-29-cellen | 300215

Algemene informatie

Description	De HT-29 cellijn, afgeleid van een graad II humaan colorectaal adenocarcinoom, vormt een hoeksteen van het onderzoeksmodel in de studie van humane darmkankers. De HT22-cellen, afkomstig van een primaire tumor bij een 44-jarige vrouw in 1964, hebben bijgedragen aan een beter begrip van de adhesie- en invasiemechanismen van kankercellen. Als menselijke adenocarcinoomcellijn vertonen HT-29 cellen kenmerken die sterk lijken op die van rijpe darmcellen, zoals enterocyten, wat hun nut onderstreept bij het onderzoeken van de dynamica van voedselvertering en de biologische beschikbaarheid van voedingsstoffen. HT-29 cellen zijn gevoelig voor conventionele chemotherapieën tegen colorectale kanker, waaronder 5-fluorouracil en oxaliplatin. Deze gevoeligheid, gekoppeld aan hun vermogen om differentiatieroutes tot expressie te brengen onder specifieke omstandigheden, zoals glucosedeprivatie of behandeling met inductoren zoals butyraat, maakt ze tot een model van onschatbare waarde voor het onderzoeken van de moleculaire mechanismen die ten grondslag liggen aan celdifferentiatie en kankerprogressie. Bovendien zijn HT-29 cellen gebruikt als xenograft tumormodel, wat een platform biedt voor in vivo studies die het gedrag van de tumor in het menselijk lichaam nabootsen. Deze toepassing maakt het mogelijk om tumorgroei, metastase en de werkzaamheid van therapeutische middelen in in vivo situaties te onderzoeken. Samengevat is de HT-29 cellijn een centraal instrument in medisch en biologisch onderzoek, dat een beter begrip van het humane colon adenocarcinoom, de moleculaire basis van differentiatie van kankercellen en de ontwikkeling van effectieve kankerbehandelingen mogelijk maakt.
Organism	Mens
Tissue	Kolon
Disease	Adenocarcinoom
Synonyms	HT 29, HT29

Kenmerken

Age	44 jaar
Gender	Vrouw
Ethnicity	Kaukasisch
Morphology	Epitheelachtig
Growth properties	Aanhangend

Product sheet

HT-29-cellen | 300215

Regelgevende gegevens

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

Biomoleculaire gegevens

Receptors expressed	Urokinase receptor(u-PAR), vitamine D (matige expressie), geen detecteerbare plasminogeen activator activiteit.
Protein expression	CEA negatief, p53 positief
Antigen expression	Bloedgroep A, Rh+, HLA A1, A3, B12, B17, Cw5, CD4 -, celoppervlakexpressie van galactose ceramide (een mogelijke alternatieve receptor voor HIV)
Isoenzymes	Me-2, 1, PGM3, 1-2, PGM1, 1-2, ES-D, 1, AK-1, 1, GLO-1, 1-2, G6PD, B, Fenotype Frequentie Product: 0.0230
Oncogenes	Myc+, ras+, myb+, fos+, sis+, p53+, abl -, ros -, src -
Tumorigenic	Ja, in naakte muizen. Vormt goed gedifferentieerd adenocarcinoom consistent met colon primair (graad I), tumoren vormen zich ook in met steroïden behandelde hamsters
Virus susceptibility	Humaan immunodeficiëntievirus (HIV, LAV)
Products	Secreet bestanddeel van IgA, carcino-embryonaal antigeen (CEA), bindend eiwit voor transformerende groeifactor bèta, mucine, Het p53-antigeen wordt overgeproduceerd
Karyotype	Het aantal stamlijnchromosomen is hypertriploïd met een 2S-component van 2,4%. In de meeste metafasen worden zeventien markerchromosomen gevonden, meestal in één kopie per chromosoom. De markeraanduidingen zijn: M1p-(=t(3p-,?) met een verwijderde korte arm), 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+, en xq-. Chromosoom 13 is nullisomisch en chromosomen 8 en 14 zijn over het algemeen monosomisch. Er werd geen Y-chromosoom gedetecteerd met QM-bandanalyse.

Omgaan met

HT-29-cellen | 300215

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 en 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	24 uur
Subculturing	Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenderen en vervolgens centrifugeren bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.
Split ratio	Een verhouding van 1:3 tot 1:8 wordt aanbevolen
Seeding density	3×10^4 cellen/cm^2
Fluid renewal	2 tot 3 keer per week
Post-Thaw Recovery	Langzaam hebben de cellen ongeveer 48 uur nodig om zich te vestigen en te hechten.
Freeze medium	Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedium (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.

HT-29-cellen | 300215

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.

Flask Coating

Geen

Freezing Procedure

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.

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

Sterility	Mycoplasmaverontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasmadetectiemethoden. Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.
STR profiel	**Amelogenin**: x,x **CSF1PO**: 11,12 **D13S317**: 11 **D16S539**: 11,12 **D5S818**: 11,12 **D7S820**: 10 **TH01**: 6,9 **TPOX**: 8,9 **vWA**: 17,19 **D3S1358**: 15,17 **D21S11**: 29,30 **D18S51**: 13 **Penta E**: 14,16 **Penta D**: 11,13 **D8S1179**: 10 **FGA**: 20,22
HLA-allelen	**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