Product sheet

HT-29-celler | 300215

Generell informasjon

Description	HT-29-cellelinjen, som stammer fra et humant kolorektalt adenokarsinom av grad II, er en hjørnesteinsforskningsmodell i studiet av tykktarmskreft hos mennesker. HT22-cellene, som stammer fra en primærsvulst hos en 44 år gammel kvinne i 1964, har bidratt til å øke vår forståelse av kreftcellers adhesjons- og invasjonsmekanismer. HT-29-celler er en human adenokarsinomcellelinje som har egenskaper som ligger tett opp til egenskapene til modne tarmceller, som enterocytter, noe som understreker hvor nyttige de er når man skal undersøke dynamikken i matfordøyelsen og biotilgjengeligheten av næringsstoffer. HT-29-celler er følsomme for konvensjonelle kjemoterapier mot kolorektal kreft, inkludert 5-fluorouracil og oksaliplatin. Denne følsomheten, kombinert med deres evne til å uttrykke differensieringsveier under spesifikke forhold, som glukosedeprivasjon eller behandling med induktorer som butyrat, gjør dem til en uvurderlig modell for å undersøke de molekylære mekanismene som ligger til grunn for celledifferensiering og kreftutvikling. HT-29-celler har dessuten blitt brukt som en xenotransplantasjonsmodell for svulster, noe som gir en plattform for in vivo-studier som etterligner svulstens oppførsel i menneskekroppen. Dette gjør det mulig å undersøke tumorvekst, metastaser og effekten av terapeutiske midler i in vivo-situasjoner. HT-29-cellelinjen er et sentralt verktøy i medisinsk og biologisk forskning, og bidrar til en dypere forståelse av humant tykktarmsadenokarsinom, det molekylære grunnlaget for differensiering av kreftceller og utvikling av effektive kreftbehandlinger.
Organism	Menneskelig
Tissue	Colon
Disease	Adenokarsinom
Synonyms	HT 29, HT29

Kjennetegn

Age	44 år
Gender	Kvinne
Ethnicity	Kaukasisk
Morphology	Epitel-lignende
Growth properties	Vedhengende

HT-29-celler | 300215

Regulatoriske data

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

Biomolekylære data

Receptors expressed	Urokinasereseptor (u-PAR), vitamin D (moderat uttrykk), ingen påvisbar plasminogenaktivatoraktivitet.
Protein expression	CEA-negativ, p53-positiv
Antigen expression	Blodtype A, Rh+, HLA A1, A3, B12, B17, Cw5, CD4 -, celleoverflateuttrykk av galaktoseceramid (en mulig alternativ reseptor for HIV)
Isoenzymes	Me-2, 1, PGM3, 1-2, PGM1, 1-2, ES-D, 1, AK-1, 1, GLO-1, 1-2, G6PD, B, Fenotypefrekvensprodukt: 0.0230
Oncogenes	Myc+, ras+, myb+, fos+, sis+, p53+, abl -, ros -, src -
Tumorigenic	Ja, i nakne mus. Danner veldifferensiert adenokarsinom som er forenlig med primærkolon (grad I), svulster dannes også i steroidbehandlede hamstere
Virus susceptibility	Humant immunsviktvirus (HIV, LAV)
Products	Sekretorisk komponent av IgA, karsinoembryonalt antigen (CEA), transforming growth factor beta binding protein, mucin, p53-antigenet er overprodusert
Karyotype	Stamlinjekromosomantallet er hypertriploid med en 2S-komponent på 2,4 %. Sytten markørkromosomer finnes i de fleste metafaser, vanligvis i én kopi per kromosom. Markørbetegnelsene er M1p-(=t(3p-,?) med en slettet kort 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+, og xq-. Kromosom 13 er nullisomisk, og kromosom 8 og 14 er generelt monosomiske. Det ble ikke påvist noe Y-kromosom ved QM-båndanalyse.

Håndtering

HT-29-celler | 300215

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), m: 2 mM L-Glutamin, m: 2,2 g/L NaHCO3, m: EBSS (Cytion artikkelnummer 820100a)
Supplements	Suppler mediet med 10 % FBS og 1 % NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	24 timer
Subculturing	Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspender cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.
Split ratio	Et forhold på 1:3 til 1:8 anbefales
Seeding density	3 x 10^4 celler/cm^2
Fluid renewal	2 til 3 ganger per uke
Post-Thaw Recovery	Cellene trenger omtrent 48 timer på å sette seg og feste seg.
Freeze medium	Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoindusert stress.

HT-29-celler | 300215

Thawing and Culturing Cells	1. Kontroller at hetteglasset er dypfryst ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport. 2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under -150 °C for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig. 3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et 37 °C varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen. 4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den. 5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig. 6. Sentrifuger blandingen ved 300 x g i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig. 7. Resuspender cellepelleten forsiktig i 10 ml nytt dyrkningsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst. 8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.
Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, befuktet atmosfære.
Flask Coating	Ingen
Freezing Procedure	Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.
Shipping Conditions	Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Storage Conditions	For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll og molekylær analyse

Sterility	Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma. For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.
STR-profil	**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-alleler	**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