

Komórki HT-29 | 300215**Informacje ogólne****Description**

Linia komórkowa HT-29, pochodząca z ludzkiego gruczolaka jelita grubego stopnia II, stanowi kamień węgielny w badaniach nad ludzkimi nowotworami jelita grubego. Uzyskane z guza pierwotnego u 44-letniej kobiety w 1964 roku, komórki HT29 odegrały kluczową rolę w lepszym zrozumieniu mechanizmów adhezji i inwazji komórek nowotworowych. Jako ludzka linia komórek gruczolaka, komórki HT-29 wykazują cechy, które ściśle naśladują dojrzałe komórki jelitowe, takie jak enterocyty, podkreślając ich przydatność w badaniu dynamiki trawienia pokarmu i biodostępności składników odżywczych.

Komórki HT-29 są wrażliwe na konwencjonalne chemioterapeutyki raka jelita grubego, w tym 5-fluorouracyl i oksaliplatynę. Wrażliwość ta, w połączeniu z ich zdolnością do ekspresji szlaków różnicowania w określonych warunkach, takich jak niedobór glukozy lub leczenie induktorami, takimi jak maślan, czyni je nieocenionym modelem do badania mechanizmów molekularnych leżących u podstaw różnicowania komórek i progresji raka.

Co więcej, komórki HT-29 zostały wykorzystane jako model ksenoprzeszczepu guza, zapewniając platformę do badań in vivo, które naśladują zachowanie guza w organizmie człowieka. Aplikacja ta pozwala na badanie wzrostu guza, przerzutów i skuteczności środków terapeutycznych w warunkach in vivo.

Podsumowując, linia komórkowa HT-29 jest kluczowym narzędziem w badaniach medycznych i biologicznych, ułatwiającym głębsze zrozumienie ludzkiego gruczolaka jelita grubego, molekularnych podstaw różnicowania komórek nowotworowych i rozwoju skutecznych metod leczenia raka.

Organism Człowiek**Tissue** Colon**Disease** Gruczolakorak**Synonyms** HT 29, HT29**Charakterystyka****Age** 44 lata**Gender** Kobieta**Ethnicity** Kaukaski**Morphology** Podobny do nabłonka**Growth properties** Adherent

Komórki HT-29 | 300215

Dane regulacyjne

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

Dane biomolekularne

Receptors expressed	Receptor urokinazy (u-PAR), witamina D (umiarkowana ekspresja), brak wykrywalnej aktywności aktywatora plazminogenu.
Protein expression	CEA ujemny, p53 dodatni
Antigen expression	Grupa krwi A, Rh+, HLA A1, A3, B12, B17, Cw5, CD4 -, ekspresja ceramidu galaktozy na powierzchni komórki (możliwy alternatywny receptor dla HIV)
Isoenzymes	Me-2, 1, PGM3, 1-2, PGM1, 1-2, ES-D, 1, AK-1, 1, GLO-1, 1-2, G6PD, B, fenotyp produktu częstotliwości: 0.0230
Oncogenes	Myc+, ras+, myb+, fos+, sis+, p53+, abl -, ros -, src -
Tumorigenic	Tak, u nagich myszy. Tworzy dobrze zróżnicowanego gruczolakoraka zgodnego z pierwotnym rakiem okrężnicy (stopień I), guzy tworzą się również u chomików leczonych sterydami
Virus susceptibility	Ludzki wirus niedoboru odporności (HIV, LAV)
Products	Składnik wydzielniczy IgA, antygen rakowo- płodowy (CEA), białko wiążące transformujący czynnik wzrostu beta, mucyna, nadprodukcja antygeny p53
Karyotype	Liczba chromosomów linii macierzystej jest hipertriploidalna ze składnikiem 2S występującym na poziomie 2,4%. Siedemnaście chromosomów markerowych znajduje się w większości metafaz, zazwyczaj w pojedynczej kopii na chromosom. Oznaczenia markerów to: M1p-(=t(3p-,?) z usuniętym krótkim ramieniem), 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+ i xq-. Chromosom 13 jest nullisomiczny, a chromosomy 8 i 14 są ogólnie monosomiczne. W analizie pasm QM nie wykryto chromosomu Y.

Obsługa

Komórki HT-29 | 300215

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-glutamina, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (numer artykułu Cytion 820100a)

Supplements Uzuppełnić podłoże 10% FBS i 1% NEAA

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 24 godziny

Subculturing Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzucić supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.

Split ratio Zalecane są proporcje od 1:3 do 1:8

Seeding density 3×10^4 kom^{órek}/cm²

Fluid renewal 2 do 3 razy w tygodniu

Post-Thaw Recovery Powoli, komórki potrzebują około 48 godzin na osiedlenie się i przyleganie.

Freeze medium Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Komórki HT-29 | 300215**Thawing and
Culturing Cells**

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

**Freezing
Procedure**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki HT-29 | 300215**Shipping
Conditions**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

**Storage
Conditions**

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA**Sterility**

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczone przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

Profil STR

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

Allele HLA

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