Product sheet

Komórki HT-29 | 300215

Informacje ogólne

Description	Linia komórkowa HT-29, pochodząca z ludzkiego gruczolakoraka 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 HT22 odegrały kluczową rolę w lepszym zrozumieniu mechanizmów adhezji i inwazji komórek nowotworowych. Jako ludzka linia komórek gruczolakoraka, 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 gruczolakoraka 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

Product sheet

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 antygenu 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	Uzupełnić 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}/cm^2
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 przepływowym, 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 x 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 zawiesinowych, 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%$_{CO2}$, 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 cały 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 fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.
Storage Conditions	W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki 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 i analiza molekularna

Sterility	Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane 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