

Cellule HCT-8 (HRT-18) | 300210**Informații generale****Description**

Cellulele HCT-8, cunoscute și sub denumirea de celule de adenocarcinom colorectal ileocecal uman, sunt o linie celulară epitelială derivată inițial de la un pacient caucazian de 67 de ani, de sex masculin, cu adenocarcinom ileocecal. Linia celulară HCT-8 a fost creată la sfârșitul anilor 1960 și este utilizată pe scară largă în cercetarea cancerului, în special în studiul patogenezei cancerului colorectal, al metastazelor și al răspunsului la tratament.

Din punct de vedere morfologic, celulele HCT-8 sunt de tip epitelial și prezintă un model de creștere în monocameră cu o formă poligonală. Ele au capacitatea de a crește atât în culturi aderente, cât și în culturi semisuspendate, ceea ce este caracteristic pentru unele stadii de tranziție ale metastazelor celulelor canceroase. Această caracteristică le face deosebit de utile pentru studiile legate de invazia și migrația celulelor canceroase.

Din punct de vedere genotipic, celulele HCT-8 sunt hipertriploide, conținând mai multe aberații cromozomiale comune în carcinoamele colorectale, inclusiv mutații și deleții care sunt relevante pentru progresia cancerului și mecanismele de rezistență. Acest profil genetic susține utilizarea lor în studiile oncologice, în special în cele axate pe căile genetice implicate în tumorigeneză și rezistența la medicamente.

Cercetările care utilizează celulele HCT-8 au contribuit semnificativ la înțelegerea biologiei cancerului colorectal, inclusiv la elucidarea căilor moleculare implicate în proliferarea celulelor canceroase, apoptoză și chimiorezistență. Linia celulară continuă să fie un model esențial pentru investigarea eficacității noilor agenți terapeutici și pentru explorarea mecanismelor moleculare care stau la baza cancerului colorectal.

Organism Om**Tissue** Rectul**Disease** Adenocarcinom**Synonyms** HCT 8, HCT8**Caracteristici****Age** 67 de ani**Gender** Masculin**Morphology** De tip epitelial**Growth properties** Aderent**Date de reglementare**

Celule HCT-8 (HRT-18) | 300210

Citation	HCT-8 (număr de catalog Cytion 300210)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_2478

Date biomoleculare

Antigen expression	CDx (+/-), CDy (-),
Isoenzymes	AK-1, 1, ES-D, 1-2, GLO-1, 2, G6PD, B, PGM1, 1, PGM3, 1, Me-2, 1
Tumorigenic	La șoarecii nude
Viruses	Transcriptază inversă negativă
Products	Antigen carcinoembrionar (CEA) 0,5 ng/10 celule exp6/10 zile, fosfatază alcalină, keratină
Mutational profile	Celulele HRT-18 prezintă o mutație în codonul 13 al genei Kras: GGC(Wt Gly) >GAC(Asp)

Manipulare

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L Glucoză, w: 2,5 mM L-Glutamină, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM Piruvat de sodiu, w: 1,2 g/L NaHCO3 (număr articol Cytion 820400a)
Supplements	Suplimentați mediul cu 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	15 ore
Subculturing	Îndepărtați mediul vechi de pe celulele aderente și spălați-le cu PBS care nu conține calciu și magneziu. Pentru flacoanele T25, se utilizează 3-5 ml de PBS, iar pentru flacoanele T75, 5-10 ml. Apoi, se acoperă celulele complet cu Accutase, folosind 1-2 ml pentru flacoanele T25 și 2,5 ml pentru flacoanele T75. Lăsați celulele la incubare la temperatura camerei timp de 8-10 minute pentru a le detașa. După incubare, amestecați ușor celulele cu 10 ml de mediu pentru a le resuspenda, apoi centrifugați la 300xg timp de 3 minute. Aruncați supernatantul, resuspendați celulele în mediu proaspăt și transferați-le în flacoane noi care conțin deja mediu proaspăt.

Celule HCT-8 (HRT-18) | 300210

Seeding density 2 până la 4×10^4 cel^{ule}/cm²

Fluid renewal de 2 până la 3 ori pe săptămână

Post-Thaw Recovery Rapid

Freeze medium Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezghețare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanți optimizați și stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea și a reduce stresul indus de criogenie.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual.
7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă.
8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO_2 , atmosferă umidificată.

Celule HCT-8 (HRT-18) | 300210

Flask Coating Niciuna

Freezing Procedure

Linile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Shipping Conditions

Linile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Storage Conditions

Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

Controlul calității / Profil genetic / HLA

Sterility

Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență.

Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.

Alele HLA

A*: '02:01:01, '24:02:01

B*: '08:01:01, '35:01:01

C*: '04:01:01, '07:01:01

DRB1*: '03:01:01, '14:54:01

DQA1*: '01:04:01, '05:01:01

DQB1*: '02:01:01, '05:03:01

DPB1*: '01:01:01, '04:01:01

E: '01:03:02, '01:xx