

Bunky HCT-8 (HRT-18) | 300210**Všeobecné informácie****Description**

Bunky HCT-8, známe aj ako bunky ľudského ileocekálného kolorektálneho adenokarcinómu, sú epitelovou bunkovou líniou pôvodne získanou od 67-ročného muža kaukazskej rasy s ileocekálnym adenokarcinómom. Bunková línia HCT-8 bola vytvorená koncom 60. rokov 20. storočia a je široko využívaná vo výskume rakoviny, najmä pri štúdiu patogenézy kolorektálneho karcinómu, metastázovania a odpovede na liečbu.

Morfologicky sú bunky HCT-8 podobné epitelovým a vykazujú jednovrstvový rastový vzor s polygonálnym tvarom. Majú schopnosť rásť v adherentných aj polosuspendovaných kultúrach, čo je charakteristické pre niektoré prechodné štádiá metastázovania rakovinových buniek. Táto vlastnosť ich robí obzvlášť užitočnými pre štúdie týkajúce sa invázie a migrácie rakovinových buniek.

Genotypovo sú bunky HCT-8 hypertriploidné a obsahujú niekoľko chromozómových aberácií bežných pre kolorektálne karcinómy vrátane mutácií a delécií, ktoré sú dôležité pre progresiu rakoviny a mechanizmy rezistencie. Tento genetický profil podporuje ich použitie v onkologických štúdiách, najmä v tých, ktoré sa zameriavajú na genetické dráhy zapojené do nádorového bujnenia a rezistencie na lieky.

Výskum využívajúci bunky HCT-8 významne prispel k pochopeniu biológie kolorektálneho karcinómu vrátane objasnenia molekulárnych dráh zapojených do proliferácie rakovinových buniek, apoptózy a chemorezistencie. Táto bunková línia je naďalej rozhodujúcim modelom na skúmanie účinnosti nových terapeutických látok a na skúmanie molekulárnych mechanizmov, ktoré sú základom kolorektálneho karcinómu.

Organism Ľudské**Tissue** Konečník**Disease** Adenokarcinóm**Synonyms** HCT 8, HCT8**Charakteristika****Age** 67 rokov**Gender** Muži**Morphology** Epitelu podobné**Growth properties** Adherent**Regulačné údaje**

Bunky HCT-8 (HRT-18) | 300210

Citation HCT-8 (katalógové číslo Cytion 300210)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_2478

Biomolekulárne údaje

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 Na nahých myšiach

Viruses Reverzná transkriptáza negatívna

Products Karcinoembryonálny antigén (CEA) 0,5 ng/10 exp6 buniek/10 dní, alkalická fosfatáza, keratín

Mutational profile Bunky HRT-18 nesú mutáciu v kodóne 13 génu Kras: GGC(Wt Gly) >GAC(Asp)

Spracovanie

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glukózy, w: 2,5 mM L-glutamínu, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM pyruvátu sodného, w: 1,2 g/l NaHCO₃ (číslo výroby Cytion 820400a)

Supplements Doplníte médium o 10 % FBS

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 15 hodín

Subculturing Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredíte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.

Bunky HCT-8 (HRT-18) | 300210

Seeding density 2 až 4 x 10⁴ buniek/cm²

Fluid renewal 2 až 3-krát týždenne

Post-Thaw Recovery Rýchle

Freeze medium Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

Incubation Atmosphere 37 °C, 5 % CO₂, zvlhčená atmosféra.

Bunky HCT-8 (HRT-18) | 300210**Flask Coating** Žiadne**Freezing Procedure**

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA**Sterility**

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplaziem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.

Alely 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