

Bunky HT-29 | 300215**Všeobecné informácie****Description**

Bunková línia HT-29, odvodená od ľudského adenokarcinómu hrubého čreva II. stupňa, predstavuje základný výskumný model pri štúdiu rakoviny hrubého čreva u ľudí. Bunky HT22, odvodené z primárneho nádoru u 44-ročnej ženy v roku 1964, sa významne podieľali na pokroku v chápaní mechanizmov adhézie alebo invázie rakovinových buniek. Ako ľudská adenokarcinómová bunková línia vykazujú bunky HT-29 vlastnosti, ktoré presne napodobňujú vlastnosti zrelých črevných buniek, ako sú enterocyty, čo zdôrazňuje ich užitočnosť pri skúmaní dynamiky trávenia potravy a biologickej dostupnosti živín.

Bunky HT-29 sú citlivé na konvenčnú chemoterapiu kolorektálneho karcinómu vrátane 5-fluóruracilu a oxaliplatiny. Táto citlivosť spolu s ich schopnosťou exprimovať diferenciačné dráhy za špecifických podmienok, ako je deprivácia glukózy alebo liečba inductormi, ako je butyrát, z nich robí neoceniteľný model na skúmanie molekulárnych mechanizmov, ktoré sú základom diferenciácie buniek a progresie rakoviny.

Okrem toho sa bunky HT-29 využívajú ako xenotransplantačný model nádoru, ktorý poskytuje platformu pre štúdie in vivo, ktoré napodobňujú správanie nádoru v ľudskom tele. Toto použitie umožňuje skúmať rast nádoru, metastázovanie a účinnosť terapeutických látok v situáciách in vivo.

Celkovo je bunková línia HT-29 kľúčovým nástrojom v medicínskom a biologickom výskume, ktorý uľahčuje hlbšie pochopenie ľudského adenokarcinómu hrubého čreva, molekulárnej podstaty diferenciácie nádorových buniek a vývoja účinnej liečby rakoviny.

Organism Ľudské**Tissue** Colon**Disease** Adenokarcinóm**Synonyms** HT 29, HT29**Charakteristika****Age** 44 rokov**Gender** Ženy**Ethnicity** Kaukazský**Morphology** Epitelu podobné**Growth properties** Adherent

Bunky HT-29 | 300215

Regulačné údaje

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

Biomolekulárne údaje

Receptors expressed	Urokinázový receptor (u-PAR), vitamín D (mierna expresia), bez zistiteľnej aktivity aktivátora plazminogénu.
Protein expression	CEA negatívny, p53 pozitívny
Antigen expression	Krvná skupina A, Rh+, HLA A1, A3, B12, B17, Cw5, CD4 -, expresia galaktózového ceramidu na povrchu buniek (možný alternatívny receptor pre HIV)
Isoenzymes	Me-2, 1, PGM3, 1-2, PGM1, 1-2, ES-D, 1, AK-1, 1, GLO-1, 1-2, G6PD, B, Produkt frekvencie fenotypu: 0.0230
Oncogenes	Myc+, ras+, myb+, fos+, sis+, p53+, abl -, ros -, src -
Tumorigenic	Áno, na nahých myšiach. Tvorí dobre diferencovaný adenokarcinóm zodpovedajúci primárnemu kolónu (stupeň I), nádory sa tvoria aj u škrečkov liečených steroidmi
Virus susceptibility	Vírus ľudskej imunitnej nedostatočnosti (HIV, LAV)
Products	Sekrečná zložka IgA, karcinoembryonálny antigén (CEA), proteín viažuci transformujúci rastový faktor beta, mucín, Nadprodukcia antigénu p53
Karyotype	Počet kmeňových chromozómov je hypertriploidný, pričom zložka 2S sa vyskytuje na 2,4 %. Sedemnást markerových chromozómov sa nachádza vo väčšine metafáz, spravidla v jednej kópii na chromozóm. Označenia markerov sú: M1p-(=t(3p-,?) s odstráneným krátkym ramenom), 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+ a xq-. Chromozóm 13 je nullizomický a chromozómy 8 a 14 sú vo všeobecnosti monozomické. Analýzou pásov QM sa nezistil žiadny chromozóm Y.

Spracovanie

Bunky HT-29 | 300215

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamín, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytion číslo článku 820100a)

Supplements Doplníte médium o 10% FBS a 1% NEAA

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 24 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 odstredujte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.

Seeding density 3×10^4 buniek/cm²

Fluid renewal 2 až 3-krát týždenne

Post-Thaw Recovery Pomaly, bunky potrebujú približne 48 hodín na usadenie a príľnutie.

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.

Bunky HT-29 | 300215**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 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

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.

Bunky HT-29 | 300215

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 mykoplazmiem založených na luminiscencii.

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

Alely 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