Product sheet

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 induktormi, 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 %. Sedemnásť 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	Doplňte 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 odstreďujte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.
Seeding density	3 x 10^4 buniek/cm^2
Fluid renewal	2 až 3-krát týždenne
Post-Thaw Recovery	Pomaly, bunky potrebujú približne 48 hodín na usadenie a priľnutie.
Freeze medium	Ako kryokonzervačné médium používame kompletné 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 obnovy a zníženie stresu spôsobeného kryo.

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.
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 a molekulárna analýza

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***: '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