Product sheet

Клітини HT55 | 305018

Загальна інформація

Description	HT55 — це клітинна лінія аденокарциноми прямої кишки людини, отримана з первинної пухлини прямої кишки 54-річної жінки кавказької раси. Лінія росте у вигляді адгезивного моношару з епітеліоподібною морфологією та зареєстрована в базі даних Cellosaurus під номером CVCL_1294. HT55 несе численні гетерозиготні та гомозиготні мутації з втратою функції в гені-супресорі пухлин *APC* (аденоматозний поліпоз товстої кишки), зокрема p.Gln1131Ter, p.Gln1303Ter, p.Arg1463Ser, p.Asn581Tyr та p.Lys241Ter (усі гетерозиготні), а також гомозиготну заміну p.Arg213Leu. Цей мутаційний профіль робить HT55 біологічно релевантною моделлю колоректального канцерогенезу, зумовленого APC, що відображає дисрегуляцію канонічного сигнального шляху WNT, який лежить в основі більшості випадків колоректального раку у людини. HT55 широко використовується в дослідженнях колоректального раку для вивчення сигнального шляху WNT/β-катеніну, функції супресора пухлин APC, чутливості та резистентності до ліків, а також для доклінічної оцінки цільових препаратів, спрямованих проти компонентів сигнального шляху WNT. Ця лінія підходить для фармакологічних аналізів in vitro та досліджень ксенотрансплантатів на імунокомпрометованих мишачих моделях, забезпечуючи прилипаючу, зручну платформу in vitro для механістичних та трансляційних досліджень колоректального раку. Наявність численних мутацій у вигляді укорочень гена APC робить HT55 репрезентативною для мікросателітно-стабільного, хромосомно-нестабільного підтипу колоректального раку, який зазвичай зумовлений втратою функції APC. HT55 культивують у середовищі EMEM (MEM Eagle, 2 мМ L-глутаміну, 2,2 г/л $NaHCO_3$, EBSS; номер артикулу Cytion 820100a), доповненому 10 % FBS, при температурі 37 °C у зволоженій атмосфері з 5 % CO_2. Субкультуру клітин проводять за допомогою Accutase, коли вони досягають приблизно 80–90 % конфлюентності, з рекомендованим співвідношенням поділу 1:3 до 1:5 та щільністю висівання 1–3 × 10^4 клітин/$см^2$. Середовище оновлюють кожні 2–3 дні. Час подвоєння становить приблизно 28 годин.
Organism	Людина
Tissue	Пряма кишка
Disease	Аденокарцинома
Applications	Дослідження раку товстої кишки; дослідження сигнального шляху WNT/APC; тестування чутливості та резистентності до лікарських препаратів; доклінічна онкологія; моделі ксенотрансплантатів; оцінка цільової терапії
Synonyms	HT55

Характеристики

Age	54 роки
Gender	Жінка

Клітини HT55 | 305018

Ethnicity	Кавказець
Morphology	Епітеліальноподібні
Cell type	Епітеліальні клітини
Growth properties	Адепт

Нормативні дані

Citation	HT55 (номер у каталозі Cytion 305018)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1294

Біомолекулярні дані

Mutational profile	Мутація: p.Gln1131Ter, гетерозиготна; Мутація: p.Gln1303Ter, гетерозиготна; Мутація: p.Arg1463Ser, гетерозиготна; Мутація: p.Asn581Tyr, гетерозиготна; Мутація: p.Lys241Ter, гетерозиготна; Мутація: p.Arg213Leu, гомозиготна

Обробка

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 мМ L-глутамін, w: 2,2 г/л NaHCO3, w: EBSS (цит. номер 820100a)
Supplements	Додайте до середовища 10% FBS
Dissociation Reagent	Аккутаза
Doubling time	28 годин

Клітини HT55 | 305018

Subculturing	Видаліть старе середовище з прикріплених клітин і промийте їх PBS без кальцію та магнію. Для колб T25 використовуйте 3–5 мл PBS, а для колб T75 — 5–10 мл. Потім повністю залийте клітини Accutase, використовуючи 1–2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8–10 хвилин, щоб вони відірвалися. Після інкубації обережно перемішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300×g протягом 3 хвилин. Злийте супернатант, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.
Split ratio	від 1 до 5
Seeding density	Від 1 до 3 x 10^4 клітин/^{см2}
Fluid renewal	Кожні 2-3 дні
Freeze medium	Як середовище кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

Клітини HT55 | 305018

Thawing and Culturing Cells

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.

2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче -150°C, щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.

3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануривши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C, обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.

4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.

5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.

6. Відцентрифугуйте суміш при 300 x g протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.

7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.

8. Дотримуйтесь встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% $_{CO2}$, волога атмосфера.

Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Storage Conditions

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості та молекулярний аналіз