HT-3

305521

YLEISTÄ TIETOA

Kuvaus

HT-3 on ihmisen kohdunkaulasyövän solulinja, joka on peräisin levyepiteelikarsinoomasta ja joka tunnetaan HPV-negatiivisuudestaan. Tätä solulinjaa on käytetty laajalti solufysiologiaan keskittyvissä tutkimuksissa, erityisesti ionikanavien säätelyn, signaalinsiirron sekä solukon dynamiikan roolin suhteen soluprosesseissa. HT-3-soluissa havaitaan tilavuusherkkien kloridi (Cl^-)-kanavien aktivaatiota, jotka ovat ratkaisevia niiden säätelevän tilavuuden vähenemisen (RVD) vasteille osmoottisen stressin alaisena. Tämä mekanismi on keskeinen solun homeostaasin ylläpitämisessä, sillä se mahdollistaa Cl^-- ja K^+-ionien ulosvirtauksen ja helpottaa siten veden siirtymistä solusta ulos, jolloin normaali tilavuus palautuu turpoamisen jälkeen.
HT-3-solulinjaan kohdistuva tutkimus on tuonut esiin tiettyjen proteiinikinaasi C:n (PKC) isoformien osallisuuden tilavuuden säätelyssä. Erityisesti PKC-α:n on todettu olevan mukana tilavuusherkkien Cl^--kanavien aktivoinnissa ja RVD-vasteissa. Kokeelliset tiedot osoittavat, että PKC-α:n estäminen joko kemiallisilla salpaajilla tai isoformikohtaisilla vasta-aineilla heikentää merkittävästi näiden kanavien toimintaa, mikä johtaa pitkittyneeseen solujen turpoamiseen ja häiriintyneeseen RVD:hen. Tämä korostaa PKC-α:n roolia säätelevänä tekijänä HT-3-solujen vasteessa hypotoniseen stressiin.
Lisäksi on osoitettu, että solukeliston, erityisesti aktiinifilamenttien ja mikrotubulusten, eheys on välttämätöntä Cl^--kanavien asianmukaiselle aktivoitumiselle ja tehokkaalle tilavuuden säätelylle HT-3-soluissa. Aktiinifilamenttien hajottaminen esimerkiksi sytokalasiini B:n kaltaisilla aineilla lisää Cl^--johtavuutta ja vaikuttaa solutilavuuden palautumiseen, kun taas stabilointiaineet, kuten falloidiini, estävät näiden kanavien toimintaa ja viivästyttävät RVD:tä. Mikrotubuluksia moduloivilla yhdisteillä, kuten kolkisiinilla ja taksolilla, on erilaisia vaikutuksia, mikä korostaa sytoskeletonin rakenteiden ja ionikanavien toiminnan monimutkaista vuorovaikutusta näissä syöpäsoluissa.

Kudos	Kohdunkaula
Sairaus	Syöpä
Metastaasikohde	Imusolmuke

Synonyymit

- HT3

LUOKITTELU

Organismi	Ihminen
Sukupuoli	Nainen
Kasvuominaisuudet	Kiinnittynyt
Bioturvallisuustaso	1

OMINAISUUDET

Morfologia	Epiteelin kaltainen
Kasvaimia aiheuttava	Kyllä, alastomilla hiirillä

TUNNISTEET

Lähdeviite

HT-3 (Cytionin tuotenumero 305521)

NCBI-verotunnus	9606

Cellosaurus	CVCL_1293

ILMENTYMINEN JA ALTTIUS

Antigeenin ilmentyminen

Ilmentyvät geenit: Veriryhmä A, Rh+

Onkogeenit

P53+, pRB+

Mutaatioprofiili

Mutaatio: TP53, p.Gly245Val (c.734G>T)

KÄSITTELY JA VILJELY

Viljelyalusta

McCoys 5a, w: 3,0 g/l glukoosia, w: vakaa glutamiini, w: 2,0 mM natriumpyruvaattia, w: 2,2 g/l NaHCO3 (Cytionin artikkelinumero 820200a)

Inkubaatioilma	37 °C, 5 %CO2, kostutettu ilmakehä.

Ravintolisät

Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä

Dissosiaatioreagenssi	Accutase

Soluviljely

Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreeseen väliaineeseen ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.

Nesteen uusiminen	2-3 kertaa viikossa

Sulatus ja viljely

Confirm that the vial remains deeply frozen upon delivery, as cells are shipped on dry ice to maintain optimal temperatures during transit. Upon receipt, either store the cryovial immediately at temperatures below -150°C to ensure the preservation of cellular integrity, or proceed to step 3 if immediate culturing is required.
For immediate culturing, swiftly thaw the vial by immersing it in a 37°C water bath with clean water and an antimicrobial agent, agitating gently for 40-60 seconds until a small ice clump remains.
Perform all subsequent steps under sterile conditions in a flow hood, disinfecting the cryovial with 70% ethanol before opening.
Carefully open the disinfected vial and transfer the cell suspension into a 15 ml centrifuge tube containing 8 ml of room-temperature culture medium, mixing gently.
Centrifuge the mixture at 300 x g for 3 minutes to separate the cells and carefully discard the supernatant containing residual freezing medium.
Gently resuspend the cell pellet in 10 ml of fresh culture medium. For adherent cells, divide the suspension between two T25 culture flasks; for suspension cultures, transfer all the medium into one T25 flask to promote effective cell interaction and growth.
Adhere to established subculture protocols for continued growth and maintenance of the cell line, ensuring reliable experimental outcomes.

LAADUNVALVONTA JA KRYOSÄILYTYS

Hedelmättömyys

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.
Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.

Jäädytysaine	Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

Säilytysolosuhteet

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen typpeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen typpeen.

Toimitusehdot

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

LAHJOITTAJA

Luovuttajan ikä	58 vuotta
Etnisyys	Kaukasialainen

OIKEUDELLISET JA TURVALLISUUSASIAT

Turvallisuusohjeet

Kun suunnitellaan kryoputken säilyttämistä nestemäisessä typessä sulatusta varten, on noudatettava tiukkoja turvatoimenpiteitä. Asianmukaiset suojakäsineet ja -vaatteet ovat välttämättömiä, ja kasvonaamarin tai suojalasien käyttö on välttämätöntä siirrettäessä jäädytettyjä näytteitä nestetyppisäiliöön tai siitä pois. Tällä pyritään pienentämään loukkaantumisriskiä, joka aiheutuu kryoputkien mahdollisista räjähdyksistä, jotka voivat aiheuttaa terävien sirpaleiden sinkoutumisen.

Takuu

Me Cytionilla seisomme tuotteidemme laadun ja elinkelpoisuuden takana.
Takaamme, että solumme ovat elinkelpoisia viljelyn alkaessa 60 päivän ajan sen jälkeen, kun ne on lähetetty laitoksestamme.
Vakuutamme, että kaikki materiaalit ovat analyysitodistuksessa ja/tai tuoteselosteessa kuvattujen eritelmien mukaisia
Lisätietoja on <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""""x-default"">Takuulausumassa

Aineiden siirtoa koskeva sopimus vaaditaan	Yes