

Клетки HT-29 MTX E12 | 305801

Обща информация

Description

HT-29-MTX-E12 е подклон, подобен на гоблетни клетки, получен от човешката колоректална аденокарциномна клетъчна линия HT29 чрез селекция с метотрексат (MTX) - процес, който предизвиква диференциация към фенотипи, отделящи слуз. Сред няколко субклона, разработени от HT29-MTX, субклонът E12 се отличава със стабилното си образуване на сляти монослое с тесни връзки и значително дебел, непрекъснат слой слуз на апикалната повърхност. Този подклон се отличава с по-висок дял на зрели гоблетни клетки, както се вижда от оцветяването с Alcian Blue, трансмисионната електронна микроскопия (ТЕМ) и експресията на муциновите гени MUC1 и MUC2. Всъщност нивата на мРНК на MUC1 и MUC2 са значително по-високи в HT-29-MTX-E12 в сравнение с други субклонове и родителски клетки HT29, което корелира с дебелината на слузта от приблизително $142 \pm 51 \mu\text{m}$ - сравнима с чревната среда *in vivo*.

Във функционално отношение HT-29-MTX-E12 е показан като модел на бариерните свойства на човешкия чревен слой слуз, особено при оценка на абсорбцията на липофилни лекарства. Наличието на дебела слузна бариера значително намалява коефициентите на видима пропускливост (Papp) на липофилни съединения като тестостерон и различни барбитурати в сравнение с клетките Caco-2 без слуз. Например тестостеронът показва 43% намаление на Papp в HT-29-MTX-E12, което подчертава влиянието на слузта върху дифузията на лекарствата. Въпреки че има по-непропусклива епителна бариера от клетките Caco-2, HT-29-MTX-E12 запазва физиологичната си значимост чрез способността си да произвежда слуз, което го прави ценен *in vitro* модел за изследване на чревната абсорбция на лекарства и влиянието на слузта върху пропускливостта.

Organism

Човек

Tissue

Дебело черво

Disease

Аденокарцином на дебелото черво

Synonyms

HT29-MTX-E12, MTX-E12

Характеристики

Age

44 години

Gender

Жена

Ethnicity

Кавказки

Cell type

Епителиален

Growth properties

Придържащи се

Клетки HT-29 MTX E12 | 305801

Регулаторни данни

Citation	HT-29-MTX-E12 (каталожен номер 305801 на Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_G356

Биомолекулярни данни

Mutational profile	Мутация: Мутация, APC, Simple, p.Glu853Ter (c.2557G>T), хетерозиготна (от родителска клетъчна линия). мутация, APC, Simple, p.Thr1556Asnfs*3 (c.4666dupA) (c.4666_4667insA), хетерозиготна (от родителска клетъчна линия). мутация, BRAF, Simple, p.Val600Glu (c.1799T>A), хетерозиготна (от родителска клетъчна линия). мутация, PIK3CA, проста, p.Pro449Thr (c.1345C>A), хетерозиготна (от родителска клетъчна линия). мутация, SMAD4, проста, p.Gln311Ter (c.931C>T), хомозиготна (от родителска клетъчна линия). Мутация, TP53, проста, p.Arg273His (c.818G>A), хомозиготна (от родителска клетъчна линия).
---------------------------	---

Работа с

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamine, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (номер на статията в Cytion 820100a)
Supplements	Допълнете средата с 10% FBS и 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Freeze medium	Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки HT-29 MTX E12 | 305801

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при $300 \times g$ в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

За оптимално прикрепване и жизнеспособност след размразяване препоръчваме да се използват **колби или плаки с колагеново покритие**.

**Freezing
Procedure**

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки HT-29 MTX E12 | 305801

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196°C . Съхранението при -80°C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.