

## Buňky HT-29 MTX E12 | 305801

## Obecné informace

## Description

HT-29-MTX-E12 je subklon podobný pohárkovým buňkám odvozený z buněčné linie lidského kolorektálního adenokarcinomu HT29 pomocí selekce metotrexátem (MTX), což je proces, který indukuje diferenciaci směrem k fenotypům vylučujícím hlen. Mezi několika subklony vyvinutými z HT29-MTX vyniká subklon E12 díky robustní tvorbě splývajících monovrstev s těsnými spoji a výrazně silnou, souvislou vrstvou hlenu na apikálním povrchu. Tento subklon se vyznačuje vyšším podílem zralých pohárkových buněk, jak prokázalo barvení alcianovou modří, transmisní elektronová mikroskopie (TEM) a exprese mucinových genů MUC1 a MUC2. Hladiny mRNA MUC1 a MUC2 byly u HT-29-MTX-E12 ve srovnání s ostatními subklony a mateřskými buňkami HT29 podstatně vyšší, což koreluje s tloušťkou hlenu přibližně  $142 \pm 51 \mu\text{m}$  - srovnatelnou se střevním prostředím in vivo.

Z funkčního hlediska se ukázalo, že HT-29-MTX-E12 modeluje bariérové vlastnosti lidské střevní hlenové vrstvy, zejména při hodnocení absorpce lipofilních léčiv. Přítomnost silné hlenové bariéry významně snižuje koeficienty zdánlivé propustnosti (Papp) lipofilních sloučenin, jako je testosteron a různé barbituráty, ve srovnání s buňkami Caco-2 bez hlenu. Například testosteron vykazoval 43% snížení Papp v HT-29-MTX-E12, což zdůrazňuje vliv hlenu na difúzi léčiv. Přestože mají buňky HT-29-MTX-E12 netěsnější epiteliální bariéru než buňky Caco-2, zachovávají si díky své schopnosti produkovat hlen fyziologický význam, což z nich činí cenný in vitro model pro zkoumání střevní absorpce léčiv a vlivu hlenu na permeabilitu.

<b>Organism</b>	Člověk
<b>Tissue</b>	Střeva
<b>Disease</b>	Adenokarcinom tlustého střeva
<b>Synonyms</b>	HT29-MTX-E12, MTX-E12

## Charakteristika

<b>Age</b>	44 let
<b>Gender</b>	Ženy
<b>Ethnicity</b>	Kavkazský
<b>Cell type</b>	Epitelové
<b>Growth properties</b>	Adherentní

## Regulační údaje

## Buňky HT-29 MTX E12 | 305801

**Citation** HT-29-MTX-E12 (katalogové číslo Cytion 305801)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_G356

## Biomolekulární data

**Mutational profile** Mutace: Mutace, APC, Simple, p.Glu853Ter (c.2557G>T), Heterozygotní (z mateřské buněčné linie). Mutace, APC, Simple, p.Thr1556Asnfs\*3 (c.4666dupA) (c.4666\_4667insA), Heterozygotní (z mateřské buněčné linie)T>A), heterozygotní (z mateřské buněčné linie). mutace, PIK3CA, Simple, p.Pro449Thr (c.1345C>A), heterozygotní (z mateřské buněčné linie). mutace, SMAD4, Simple, p.Gln311Ter (c.931C>T), homozygotní (z mateřské buněčné linie). mutace, TP53, Simple, p.Arg273His (c.818G>A), homozygotní (z mateřské buněčné linie).

## Zpracování

**Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/l NaHCO<sub>3</sub>, w: EBSS (číslo článku Cytion 820100a)

**Supplements** Doplněte médium o 10 % FBS a 1 % NEAA

**Dissociation Reagent** Accutase

**Freeze medium** Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

## Buňky HT-29 MTX E12 | 305801

### Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmražená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstřeďte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

### Incubation Atmosphere

37 °C, 5 %  $\text{CO}_2$ , zvlhčená atmosféra.

### Flask Coating

Žádný

### Freezing Procedure

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

### Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

## Buňky HT-29 MTX E12 | 305801

### Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

## Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

### Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.