

HT-29 MTX E12-celler | 305801**Generel information****Description**

HT-29-MTX-E12 er en bægercellelignende subklon, der stammer fra den humane kolorektale adenokarcinomcellelinje HT29 gennem selektion med methotrexat (MTX), en proces, der inducerer differentiering i retning af slimudskillende fænotyper. Blandt flere subkloner udviklet fra HT29-MTX skiller E12-subklonen sig ud på grund af sin robuste dannelse af sammenflydende monolag med tight junctions og et betydeligt tykt, kontinuerligt slimlag på den apikale overflade. Denne subklon har en højere andel af modne bægerceller, som det fremgår af Alcian Blue-farvning, transmissionselektronmikroskopi (TEM) og ekspresion af mucingenerne MUC1 og MUC2. Faktisk var mRNA-niveauerne for MUC1 og MUC2 væsentligt højere i HT-29-MTX-E12 sammenlignet med andre subkloner og HT29-forældreceller, hvilket korrelerer med en slimtykkelse på ca. $142 \pm 51 \mu\text{m}$, som kan sammenlignes med tarmmiljøet in vivo.

Funktionelt har HT-29-MTX-E12 vist sig at være en model for barriereegenskaberne i det humane tarmslimlag, især ved evaluering af absorptionen af lipofile lægemidler. Tilstedeværelsen af en tyk slimbarriere reducerer de tilsyneladende permeabilitetskoefficienter (Papp) for lipofile forbindelser som testosteron og forskellige barbiturater betydeligt sammenlignet med slimfri Caco-2-celler. For eksempel viste testosteron en 43 % reduktion i Papp i HT-29-MTX-E12, hvilket understreger slimens indvirkning på lægemiddeldiffusionen. På trods af at HT-29-MTX-E12 har en mere utæt epitelbarriere end Caco-2-celler, opretholder den fysiologisk relevans gennem sin slimproducerende kapacitet, hvilket gør den til en værdifuld in vitro-model til undersøgelse af tarmens lægemiddelabsorption og slimets indflydelse på permeabiliteten.

Organism

Menneske

Tissue

Tarm

Disease

Adenokarcinom i tyktarmen

Synonyms

HT29-MTX-E12, MTX-E12

Karakteristika**Age**

44 år

Gender

Kvinde

Ethnicity

Kaukasisk

Cell type

Epitelial

Growth properties

Vedhæftende

Regulatoriske data

HT-29 MTX E12-celler | 305801

Citation HT-29-MTX-E12 (Cytion katalognummer 305801)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_G356

Biomolekylære data

Mutational profile Mutation: APC, Simple, p.Glu853Ter (c.2557G>T), Heterozygot (fra modercellelinje). Mutation, APC, Simple, p.Thr1556Asnfs*3 (c.4666dupA) (c.4666_4667insA), Heterozygot (fra modercellelinje). Mutation, BRAF, Simple, p.Val600Glu (c.1799T>A), Heterozygot (fra modercellelinje). Mutation, PIK3CA, Simple, p.Pro449Thr (c.1345C>A), Heterozygot (fra modercellelinje). Mutation, SMAD4, Simple, p.Gln311Ter (c.931Mutation, TP53, Simple, p.Arg273His (c.818G>A), Homozygot (fra modercellelinje).

Håndtering

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytion artikelnummer 820100a)

Supplements Suppler mediet med 10% FBS og 1% NEAA

Dissociation Reagent Accutase

Freeze medium Som kryopræservesmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.

HT-29 MTX E12-celler | 305801

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befugtet atmosfære.

Flask Coating

For at opnå optimal vedhæftning og levedygtighed efter optøning anbefaler vi at bruge **kollagenbelagte kolber eller plader**.

Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

HT-29 MTX E12-celler | 305801

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.