

HT-29 MTX E12-Zellen | 305801

Allgemeine Informationen

Description

HT-29-MTX-E12 ist ein becherzellenähnlicher Subklon, der aus der humanen kolorektalen Adenokarzinom-Zelllinie HT29 durch Selektion mit Methotrexat (MTX) gewonnen wurde, einem Verfahren, das eine Differenzierung in Richtung schleimabsondernder Phänotypen bewirkt. Unter mehreren Subklonen, die aus HT29-MTX entwickelt wurden, sticht der Subklon E12 durch seine robuste Bildung von konfluenten Monolayern mit Tight Junctions und einer signifikant dicken, kontinuierlichen Schleimschicht an der apikalen Oberfläche hervor. Dieser Subklon weist einen höheren Anteil an reifen Becherzellen auf, wie die Alcianblau-Färbung, die Transmissionselektronenmikroskopie (TEM) und die Expression der Mucin-Gene MUC1 und MUC2 zeigen. Tatsächlich waren die MUC1- und MUC2-mRNA-Konzentrationen in HT-29-MTX-E12 im Vergleich zu anderen Subklonen und Mutterzellen von HT29 wesentlich höher, was mit einer Schleimdicke von ca. $142 \pm 51 \mu\text{m}$ korreliert - vergleichbar mit der in vivo-Darmumgebung.

Es hat sich gezeigt, dass HT-29-MTX-E12 die Barriereigenschaften der menschlichen Darmschleimhaut nachbilden kann, insbesondere bei der Bewertung der Absorption lipophiler Arzneimittel. Das Vorhandensein einer dicken Schleimbarriere reduziert die scheinbaren Permeabilitätskoeffizienten (Papp) von lipophilen Verbindungen wie Testosteron und verschiedenen Barbituraten im Vergleich zu schleimfreien Caco-2-Zellen erheblich. So zeigte Testosteron in HT-29-MTX-E12 eine 43%ige Verringerung des Papp-Wertes, was den Einfluss von Schleim auf die Medikamentendiffusion verdeutlicht. Obwohl HT-29-MTX-E12 eine undichtere Epithelbarriere als Caco-2-Zellen hat, ist sie aufgrund ihrer Fähigkeit, Schleim zu produzieren, physiologisch relevant und damit ein wertvolles In-vitro-Modell für die Untersuchung der intestinalen Arzneimittelabsorption und des Einflusses von Schleim auf die Permeabilität.

Organism

Menschen

Tissue

Doppelpunkt

Disease

Adenokarzinom des Dickdarms

Synonyms

HT29-MTX-E12, MTX-E12

Merkmale

Age

44 Jahre

Gender

Weiblich

Ethnicity

Kaukasisch

Cell type

Epithelial

Growth properties

Adhärent

HT-29 MTX E12-Zellen | 305801

Regulatorische Daten

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

Biomolekulare Daten

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

Handhabung

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (Cytion-Artikelnummer 820100a)
Supplements	Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS und 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Freeze medium	Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

HT-29 MTX E12-Zellen | 305801

Thawing and Culturing Cells

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei $300 \times g$, um die Zellen abzutrennen, und werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhärennten Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , befeuchtete Atmosphäre.

Flask Coating

Keine

Freezing Procedure

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

HT-29 MTX E12-Zellen | 305801

Shipping Conditions

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Storage Conditions

Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Qualitätskontrolle / Genetisches Profil / HLA

Sterility

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.

Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.