

## Κύτταρα HT-29 MTX E12 | 305801

## Γενικές πληροφορίες

## Description

Το HT-29-MTX-E12 είναι ένας υποκλώνος που μοιάζει με κύτταρα βλεννογόνων και προέρχεται από την ανθρώπινη κυτταρική σειρά αδενοκαρκινώματος του παχέος εντέρου HT29 μέσω επιλογής με μεθοτρεξάτη (MTX), μια διαδικασία που επάγει τη διαφοροποίηση προς φαινότυπους που εκκρίνουν βλέννα. Μεταξύ διαφόρων υποκλώνων που αναπτύχθηκαν από το HT29-MTX, ο υποκλώνος E12 ξεχωρίζει λόγω του ισχυρού σχηματισμού του σε συνεχή μονοστρώματα με στεγανές συνδέσεις και ένα σημαντικό παχύ, συνεχές στρώμα βλέννας στην ακραία επιφάνεια. Αυτός ο υποκλώνος διαθέτει υψηλότερο ποσοστό ώριμων κυττάρων βοθρίων, όπως καταδεικνύεται από τη χρώση Alcian Blue, την ηλεκτρονική μικροσκοπία διέλευσης (TEM) και την έκφραση των γονιδίων βλεννογόνων MUC1 και MUC2. Πράγματι, τα επίπεδα mRNA MUC1 και MUC2 ήταν σημαντικά υψηλότερα στο HT-29-MTX-E12 σε σύγκριση με άλλους υποκλώνους και τα κύτταρα HT29 του γονέα, συσχετιζόμενα με ένα πάχος βλέννας περίπου  $142 \pm 51$  μm - συγκρίσιμο με το in vivo εντερικό περιβάλλον.

Λειτουργικά, το HT-29-MTX-E12 έχει αποδειχθεί ότι μοντελοποιεί τις ιδιότητες φραγμού της ανθρώπινης εντερικής στιβάδας βλέννας, ιδίως στην αξιολόγηση της απορρόφησης λιπόφιλων φαρμάκων. Η παρουσία ενός παχύ φραγμού βλέννας μειώνει σημαντικά τους συντελεστές φαινόμενης διαπερατότητας (Papp) λιπόφιλων ενώσεων όπως η τεστοστερόνη και διάφορα βαρβιτουρικά σε σύγκριση με τα κύτταρα Caco-2 χωρίς βλέννα. Για παράδειγμα, η τεστοστερόνη παρουσίασε μείωση του Papp κατά 43% στα HT-29-MTX-E12, αναδεικνύοντας την επίδραση της βλέννας στη διάχυση των φαρμάκων. Παρά το γεγονός ότι ο επιθηλιακός φραγμός έχει μεγαλύτερη διαροή από τα κύτταρα Caco-2, το HT-29-MTX-E12 διατηρεί φυσιολογική σημασία μέσω της ικανότητας παραγωγής βλέννας, καθιστώντας το ένα πολύτιμο in vitro μοντέλο για τη διερεύνηση της εντερικής απορρόφησης φαρμάκων και της επίδρασης της βλέννας στη διαπερατότητα.

**Organism** Ανθρώπινο

**Tissue** Κόλον

**Disease** Αδενοκαρκίνωμα του παχέος εντέρου

**Synonyms** HT29-MTX-E12, MTX-E12

## Χαρακτηριστικά

**Age** 44 χρόνια

**Gender** Γυναίκα

**Ethnicity** Καυκάσιος

**Cell type** Επιθηλιακό

**Growth properties** Προσκολλημένο

**Κύτταρα HT-29 MTX E12 | 305801****Ρυθμιστικά δεδομένα**

<b>Citation</b>	HT-29-MTX-E12 (αριθμός καταλόγου Cytion 305801)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_G356

**Βιομοριακά δεδομένα**

<b>Mutational profile</b>	Μετάλλαξη: Μετάλλαξη, APC, Simple, p.Thr1556Asnfs*3 (c.4666dupA) (c.4666_4667insA), Heterozygous (from parent cell line)T>A), Ετερόζυγοι (από μητρική κυτταρική σειρά).Μετάλλαξη, PIK3CA, Απλή, p.Pro449Thr (c.1345C>A), Ετερόζυγοι (από μητρική κυτταρική σειρά).Μετάλλαξη, SMAD4, Απλή, p.Gln311Ter (c.931C>T), Ομόζυγος (από μητρική κυτταρική σειρά).Μετάλλαξη, TP53, Απλή, p.Arg273His (c.818G>A), Ομόζυγος (από μητρική κυτταρική σειρά).
---------------------------	---

**Χειρισμός**

<b>Culture Medium</b>	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-γλουταμίνη, w: 2,2 g/L NaHCO <sub>3</sub> , w: EBSS (αριθμός άρθρου Cytion 820100a)
<b>Supplements</b>	Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS και 1% NEAA
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Freeze medium</b>	Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

**Κύτταρα HT-29 MTX E12 | 305801****Thawing and  
Culturing Cells**

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρουφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των  $-150^{\circ}\text{C}$  για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο  $37^{\circ}\text{C}$  με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρουφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα  $300 \times g$  για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

**Incubation  
Atmosphere**

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

**Flask Coating**

Για βέλτιστη προσκόλληση και βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, συνιστούμε τη χρήση **φιαλών ή πλακών με επικάλυψη κολλαγόνου**.

**Freezing  
Procedure**

Οι κρουσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των  $-78^{\circ}\text{C}$  καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

## Κύτταρα HT-29 MTX E12 | 305801

### Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των  $-78^{\circ}\text{C}$  καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

### Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου  $-150$  έως  $-196^{\circ}\text{C}$ . Η αποθήκευση στους  $-80^{\circ}\text{C}$  είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

## Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

### Sterility

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.