

HT-29 MTX E12 rakud | 305801

Üldine teave

Description

HT-29-MTX-E12 on inimese kolorektaalse adenokartsinoomi rakuliinist HT29 metotreksaadiga (MTX) selekteerimise teel saadud peibutusrakkude sarnane subkloon, mis kutsub esile diferentseerumist lima eritava fenotüübi suunas. Mitmete HT29-MTX-ist arendatud subkloonide hulgast paistab silma E12 subkloon, mis moodustab tugevalt konfluentsed monokihid, millel on tihedad ühendused ja märkimisväärselt paks, pidev limaskihi apikaalsel pinnal. Selles subkloonis on suurem osakaal küpset peiburirakke, nagu näitas Alcian Blue värvimine, transmissioonelektronmikroskoopia (TEM) ja mutsiinigeenide MUC1 ja MUC2 ekspressioon. MUC1 ja MUC2 mRNA tasemed olid HT-29-MTX-E12-s oluliselt kõrgemad võrreldes teiste alamkloonide ja HT29 vanemrakkudega, mis korreleerub lima paksusega ligikaudu $142 \pm 51 \mu\text{m}$ - võrreldav in vivo soolestiku keskkonnaga.

Funktsionaalselt on näidatud, et HT-29-MTX-E12 modelleerib inimese soole limaskesta barjääriomadusi, eriti lipofiilsete ravimite imendumise hindamisel. Paksu limaskesta barjääri olemasolu vähendab oluliselt lipofiilsete ühendite, näiteks testosterooni ja erinevate barbituraatide näivat läbilaskvuskoeffitsienti (Papp) võrreldes limaskesta Caco-2 rakkudega. Näiteks testosterooni puhul vähenes Papp HT-29-MTX-E12 rakkudes 43%, mis näitab lima mõju ravimite difusioonile. Vaatamata sellele, et HT-29-MTX-E12 epiteelbarjäär on lekkivam kui Caco-2 rakkudel, säilitab HT-29-MTX-E12 oma lima tootmisvõime tõttu füsioloogilise tähtsuse, mistõttu on see väärtuslik in vitro mudel soolestiku ravimite imendumise ja lima mõju läbilaskvusele uurimiseks.

Organism Inimene

Tissue Colon

Disease Jämesoole adenokartsinoom

Synonyms HT29-MTX-E12, MTX-E12

Omadused

Age 44 aastat

Gender Naised

Ethnicity Kaukaasia

Cell type Epiteel

Growth properties Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

HT-29 MTX E12 rakud | 305801

Citation HT-29-MTX-E12 (Cytioni katalooginumber 305801)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_G356

Biomolekulaarsed andmed

Mutational profile Mutatsioon: Mutatsioon, APC, Simple, p.Thr1556Asnfs*3 (c.4666dupA) (c.4666_4667insA), Heterosügootne (vanemrakuliinist) Mutatsioon, BRAF, Simple, p.Val600Glu (c.1799T>A), heterosügootne (vanemrakuliinist). Mutatsioon, PIK3CA, Simple, p.Pro449Thr (c.1345C>A), heterosügootne (vanemrakuliinist). Mutatsioon, SMAD4, Simple, p.Gln311Ter (c.931A>A), heterosügootne (vanemrakuliinist)C>T), homosügootne (vanemrakuliinist). Mutatsioon, TP53, Simple, p.Arg273His (c.818G>A), homosügootne (vanemrakuliinist).

Töötlemine

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamiin, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytioni artikli number 820100a)

Supplements Täiendada söötme 10% FBS ja 1% NEAAga

Dissociation Reagent Accutase

Freeze medium Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

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

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

**Freezing
Procedure**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Shipping
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

HT-29 MTX E12 rakud | 305801

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.