

## HT-29 MTX E12-solut | 305801

## Yleisiä tietoja

## Description

HT-29-MTX-E12 on ihmisen paksusuolen adenokarsinooman HT29-solinjasta metotreksaatilla (MTX) tehdyn valinnan avulla johdettu puslasolujen kaltainen alaklooni, joka indusoi erilaistumisen kohti limaa erittävää fenotyyppiä. HT29-MTX:stä kehitettyjen useiden alakloonien joukosta E12-alaklooni erottuu edukseen, koska se muodostaa vahvasti konfluenteja monokerroksia, joissa on tiukkoja liitoksia ja huomattavan paksu, yhtenäinen limainen kerros apikaalipinnalla. Tässä alakloonissa on suurempi osuus kypsiä kalvosoluja, mikä osoitetaan Alcian Blue -värjäyksellä, transmissioelektronimikroskopiolla (TEM) ja musiinigeenien MUC1 ja MUC2 ilmentymisellä. Itse asiassa MUC1- ja MUC2-mRNA-tasot olivat huomattavasti korkeammat HT-29-MTX-E12:ssa kuin muissa alaklooneissa ja HT29:n kantasoluissa, mikä korreloi liman paksuuden kanssa, joka oli noin  $142 \pm 51 \mu\text{m}$  - mikä vastaa in vivo-suoliston ympäristöä.

Toiminnallisesti HT-29-MTX-E12:n on osoitettu mallintavan ihmisen suolen limakerroksen esteominaisuuksia erityisesti lipofiilisten lääkkeiden imeytymisen arvioinnissa. Paksun limaesteen läsnäolo vähentää merkittävästi lipofiilisten yhdisteiden, kuten testosteronin ja erilaisten barbituraattien, näennäisiä läpäisykertoimia (Papp) verrattuna limaamattomiin Caco-2-soluihin. Esimerkiksi testosteronin Papp-arvo pieneni 43 prosenttia HT-29-MTX-E12-soluissa, mikä korostaa liman vaikutusta lääkkeen diffuusioon. Vaikka HT-29-MTX-E12-soluilla on Caco-2-soluja tiiviimpi epiteelieste, se säilyttää fysiologisen merkityksensä limantuottokykynsä ansiosta, mikä tekee siitä arvokkaan in vitro -mallin, jolla voidaan tutkia suoliston lääkeaineiden imeytymistä ja liman vaikutusta läpäisevyyteen.

## Organism

Ihminen

## Tissue

Paksusuoli

## Disease

Paksusuolen adenokarsinooma

## Synonyms

HT29-MTX-E12, MTX-E12

## Ominaisuudet

## Age

44 vuotta

## Gender

Nainen

## Ethnicity

Kaukasialainen

## Cell type

Epiteeli

## Growth properties

Tarttuva

## Säätelytiedot

## HT-29 MTX E12-solut | 305801

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

## Biomolekyytitiedot

<b>Mutational profile</b>	Mutaatio: Mutaatio, APC, Simple, p.Thr1556Asnfs*3 (c.4666dupA) (c.4666_4667insA), Heterotsygoottinen (kantasolulinjasta)T>A), Heterotsygootti (kantasolulinjasta).Mutaatio, PIK3CA, Yksinkertainen, p.Pro449Thr (c.1345C>A), Heterotsygootti (kantasolulinjasta).Mutaatio, SMAD4, Yksinkertainen, p.Gln311Ter (c.931C>T), homotsygoottinen (kantasolulinjasta).Mutaatio, TP53, yksinkertainen, p.Arg273His (c.818G>A), homotsygoottinen (kantasolulinjasta).
---------------------------	--

## Käsittely

<b>Culture Medium</b>	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamiini, w: 2,2 g/L NaHCO <sub>3</sub> , w: EBSS (Cytionin artikkelinumero 820100a)
<b>Supplements</b>	Täydennetään elatusainetta 10 % FBS:llä ja 1 % NEAA:lla
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Freeze medium</b>	Kryosäilytysmediaana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

## HT-29 MTX E12-solut | 305801

### Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

### Incubation Atmosphere

37 °C, 5 %  $\text{CO}_2$ , kostutettu ilmakehä.

### Flask Coating

Optimaalisen kiinnittymisen ja elinkelpoisuuden saavuttamiseksi sulatuksen jälkeen suosittelemme **kollageenipinnoitettujen pullojen tai levyjen** käyttöä.

### Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

## HT-29 MTX E12-solut | 305801

### Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäissä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

### Storage Conditions

Pitkäaikaisäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

## Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

### Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.