

HT-29 MTX E12 sejtek | 305801

Általános információk

Description

A HT-29-MTX-E12 a HT29 humán kolorektális adenokarcinóma sejtvonalból metotrexáttal (MTX) történő szelekcióval nyert gobletsejt-szerű szubklón, amely folyamat nyálkakiválasztó fenotípus felé történő differenciálódást indukál. A HT29-MTX-ből kifejlesztett számos szubklón közül az E12 szubklón kiemelkedik azzal, hogy robusztusan képez konfluens monoréteget, szoros kötésekkel és jelentősen vastag, folyamatos nyálkaréteggel az apikális felületen. Ebben az alklónban nagyobb az érett pókhálósejtek aránya, amint azt az Alcian Blue festés, a transzmissziós elektronmikroszkópia (TEM) és a MUC1 és MUC2 mucin gének expressziója mutatja. Valójában a MUC1 és MUC2 mRNS-szintek lényegesen magasabbak voltak a HT-29-MTX-E12-ben a többi alklónhoz és a HT29 szülősejtekhez képest, ami korrelál a körülbelül $142 \pm 51 \mu\text{m}$ -es nyálkahártya vastagsággal - ami összehasonlítható az in vivo bélkörnyezettel.

Funkcionálisan a HT-29-MTX-E12 a humán bélnyálkahártya barrier tulajdonságait modellezi, különösen a lipofil gyógyszerek felszívódásának értékelésében. A vastag nyálkahártya jelenléte jelentősen csökkenti a lipofil vegyületek, például a tesztoszteron és a különböző barbiturátok látszólagos permeabilitási együtthatóit (Papp) a nyálkamentes Caco-2 sejtekhez képest. Például a tesztoszteron esetében a HT-29-MTX-E12 sejtekben a Papp 43%-kal csökkent, ami rávilágít a nyálkahártya gyógyszerdiffúzióra gyakorolt hatására. Annak ellenére, hogy a HT-29-MTX-E12 sejtek a Caco-2 sejteknél lyukasabb hámgátat képeznek, nyálkatermelő képessége révén fiziológiai jelentőségét megőrzi, így értékes in vitro modellé válik a bélrendszeri gyógyszerfelszívódás és a nyálkának a permeabilitásra gyakorolt hatásának vizsgálatára.

Organism

Emberi

Tissue

Vastagbél

Disease

Vastagbél adenokarcinóma

Synonyms

HT29-MTX-E12, MTX-E12

Jellemzők

Age

44 év

Gender

Női

Ethnicity

Kaukázusi

Cell type

Epithelialis

Growth properties

Adherent

Szabályozási adatok

HT-29 MTX E12 sejtek | 305801

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

Biomolekuláris adatok

Mutational profile	Mutáció: Mutáció, APC, Simple, p.Thr1556Asnfs*3 (c.4666dupA) (c.4666_4667insA), Heterozigóta (szülői sejtvonalból) Mutáció, BRAF, Simple, p.Val600Glu (c.1799, c.2557G>T)T>A), Heterozigóta (szülői sejtvonalból).Mutáció, PIK3CA, Simple, p.Pro449Thr (c.1345C>A), Heterozigóta (szülői sejtvonalból).Mutáció, SMAD4, Simple, p.Gln311Ter (c.931A>A), Heterozigóta (szülői sejtvonalból).Mutáció, SMAD4, Simple, p.Gln311Ter (c.931C>T), homozigóta (szülői sejtvonalból).Mutáció, TP53, Simple, p.Arg273His (c.818G>A), homozigóta (szülői sejtvonalból).
---------------------------	---

A kezelése

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (Cytion cikkszám: 820100a)
Supplements	A táptalajt 10% FBS-szel és 1% NEAA-val kell kiegészíteni
Dissociation Reagent	Accutase
Freeze medium	Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kioltás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

HT-29 MTX E12 sejtek | 305801

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150 °C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37 °C -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a kriofülkét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejt kölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere

37 °C , 5% CO_2 , párásított légkör.

Flask Coating

A felolvasztás utáni optimális kötődés és életképesség érdekében **kollagénnel bevont lombikok vagy lemezek** használatát javasoljuk.

Freezing Procedure

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

HT-29 MTX E12 sejtek | 305801

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejtvonalatokat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ közötti hőmérsékleten. A $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.