

Sel HT-29 MTX E12 | 305801

Informasi umum

Description

HT-29-MTX-E12 adalah subklon mirip sel piala yang berasal dari garis sel adenokarsinoma kolorektal manusia HT29 melalui seleksi dengan metotreksat (MTX), sebuah proses yang menginduksi diferensiasi ke arah fenotipe yang mengeluarkan lendir. Di antara beberapa subklon yang dikembangkan dari HT29-MTX, subklon E12 menonjol karena pembentukan monolayer konfluen yang kuat dengan persimpangan yang rapat dan lapisan lendir yang sangat tebal dan kontinu pada permukaan apikal. Subklon ini memiliki proporsi yang lebih tinggi dari sel piala dewasa, seperti yang ditunjukkan oleh pewarnaan Alcian Blue, mikroskop elektron transmisi (TEM), dan ekspresi gen mucin MUC1 dan MUC2. Faktanya, tingkat mRNA MUC1 dan MUC2 secara substansial lebih tinggi pada HT-29-MTX-E12 dibandingkan dengan subklon lain dan sel induk HT29, berkorelasi dengan ketebalan lendir sekitar $142 \pm 51 \mu\text{m}$ - sebanding dengan lingkungan usus in vivo.

Secara fungsional, HT-29-MTX-E12 telah terbukti memodelkan sifat penghalang dari lapisan lendir usus manusia, terutama dalam mengevaluasi penyerapan obat lipofilik. Kehadiran penghalang lendir yang tebal secara signifikan mengurangi koefisien permeabilitas nyata (Papp) senyawa lipofilik seperti testosteron dan berbagai barbiturat jika dibandingkan dengan sel Caco-2 yang bebas lendir. Sebagai contoh, testosteron menunjukkan penurunan Papp sebesar 43% pada HT-29-MTX-E12, yang menyoroti dampak lendir pada difusi obat. Meskipun memiliki penghalang epitel yang lebih bocor daripada sel Caco-2, HT-29-MTX-E12 mempertahankan relevansi fisiologis melalui kapasitas penghasil lendirnya, menjadikannya model in vitro yang berharga untuk menyelidiki penyerapan obat usus dan pengaruh lendir pada permeabilitas.

Organism

Manusia

Tissue

Usus besar

Disease

Adenokarsinoma usus besar

Synonyms

HT29-MTX-E12, MTX-E12

Karakteristik

Age

44 tahun

Gender

Perempuan

Ethnicity

Kaukasia

Cell type

Epitel

Growth properties

Patuh

Data Peraturan

Sel HT-29 MTX E12 | 305801

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

Data Biomolekuler

Mutational profile	Mutasi: APC, Sederhana, p.Glu853Ter (c.2557G>T), Heterozigot (dari garis sel induk) Mutasi, APC, Sederhana, p.Thr1556Asnfs*3 (c.4666dupA) (c.4666_4667insA), Heterozigot (dari garis sel induk) Mutasi, BRAF, Sederhana, p.Val600Glu (c.1799Mutasi, PIK3CA, Sederhana, p.Pro449Thr (c.1345C>A), Heterozigot (dari garis sel induk) Mutasi, PIK3CA, Sederhana, p.Pro449Thr (c.1345C>A), Heterozigot (dari garis sel induk) Mutasi, SMAD4, Sederhana, p.Gln311Ter (c.931Mutasi, TP53, Sederhana, p.Arg273His (c.818G>A), Homozigot (dari garis sel induk) Mutasi, TP53, Sederhana, p.Arg273His (c.818G>A), Homozigot (dari garis sel induk).
---------------------------	--

Penanganan

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamine, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (nomor artikel Cytion 820100a)
Supplements	Lengkapi media dengan 10% FBS dan 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Freeze medium	Sebagai media kriopreservasi, kami menggunakan media pertumbuhan lengkap (termasuk FBS) + 10% DMSO untuk viabilitas pasca-pencairan yang memadai, atau CM-1 (nomor katalog Cytion 800100), yang mencakup osmoprotektan yang dioptimalkan dan penstabil metabolisme untuk meningkatkan pemulihan dan mengurangi stres yang diinduksi kriopreservasi.

Sel HT-29 MTX E12 | 305801

Thawing and Culturing Cells

1. Pastikan botol tetap dalam keadaan beku pada saat pengiriman, karena sel dikirim dengan es kering untuk mempertahankan suhu optimal selama perjalanan.
2. Setelah diterima, segera simpan cryovial pada suhu di bawah -150°C untuk memastikan pelestarian integritas sel, atau lanjutkan ke langkah 3 jika kultur segera diperlukan.
3. Untuk kultur segera, segera cairkan botol dengan merendamnya dalam penangas air bersuhu 37°C dengan air bersih dan agen antimikroba, aduk perlahan selama 40-60 detik hingga gumpalan es kecil tetap ada.
4. Lakukan semua langkah selanjutnya dalam kondisi steril di dalam tudung alir, desinfektan kriovial dengan etanol 70% sebelum dibuka.
5. Buka botol yang telah didesinfeksi dengan hati-hati dan pindahkan suspensi sel ke dalam tabung sentrifugasi 15 ml yang berisi 8 ml media kultur suhu kamar, aduk perlahan.
6. Sentrifus campuran pada $300 \times g$ selama 3 menit untuk memisahkan sel dan dengan hati-hati membuang supernatan yang mengandung sisa media pembekuan.
7. Resuspensi pelet sel dengan hati-hati dalam 10 ml medium kultur segar. Untuk sel yang melekat, bagi suspensi di antara dua labu kultur T25; untuk kultur suspensi, pindahkan semua media ke dalam satu labu T25 untuk mendorong interaksi dan pertumbuhan sel yang efektif.
8. Patuhi protokol subkultur yang telah ditetapkan untuk pertumbuhan dan pemeliharaan garis sel yang berkelanjutan, memastikan hasil eksperimental yang andal.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfer yang dilembapkan.

Flask Coating

Tidak ada

Freezing Procedure

Lini sel kriopreservasi dikirim di atas es kering dalam kemasan terisolasi yang divalidasi dengan refrigeran yang cukup untuk mempertahankan suhu sekitar -78°C selama perjalanan. Setelah diterima, segera periksa wadah dan pindahkan botol tanpa penundaan ke tempat penyimpanan yang sesuai.

Shipping Conditions

Lini sel kriopreservasi dikirim di atas es kering dalam kemasan terisolasi yang divalidasi dengan refrigeran yang cukup untuk mempertahankan suhu sekitar -78°C selama perjalanan. Setelah diterima, segera periksa wadah dan pindahkan botol tanpa penundaan ke tempat penyimpanan yang sesuai.

Sel HT-29 MTX E12 | 305801

**Storage
Conditions**

Untuk pengawetan jangka panjang, tempatkan botol dalam nitrogen cair fase uap pada suhu sekitar -150 hingga -196 °C. Penyimpanan pada suhu -80 °C hanya dapat diterima sebagai langkah sementara sebelum dipindahkan ke nitrogen cair.

Kontrol kualitas / Profil genetik / HLA

Sterility

Kontaminasi mikoplasma disingkirkan dengan menggunakan tes berbasis PCR dan metode deteksi mikoplasma berbasis pendaran.

Untuk memastikan tidak ada kontaminasi bakteri, jamur, atau ragi, kultur sel menjalani inspeksi visual setiap hari.