

HT-29 MTX E12 ląstelės | 305801

Bendra informacija

Description

HT-29-MTX-E12 yra į taurelės tipo ląsteles panašus subklonas, gautas iš žmogaus storosios žarnos adenokarcinomos ląstelių linijos HT29, atrenkant ją metotreksatu (MTX), kuris paskatina diferenciaciją į gleives išskiriantį fenotipą. Iš kelių sublonų, sukurtų iš HT29-MTX, E12 sublonas išsiskiria tuo, kad jis tvirtai formuoja susiliejančius monosluoksnius su glaudžiomis jungtimis ir labai storu, ištisiniu gleivių sluoksniu viršūniniame paviršiuje. Šis subklonas pasižymi didesne subrendusių taurelinių ląstelių dalimi, kaip rodo Alcian Blue dažymas, transmisinė elektroninė mikroskopija (TEM) ir mucino genų MUC1 ir MUC2 raiška. Iš tikrųjų MUC1 ir MUC2 mRNA kiekis HT-29-MTX-E12 buvo gerokai didesnis, palyginti su kitais subklonais ir motininėmis HT29 ląstelėmis, o tai atitinka maždaug $142 \pm 51 \mu\text{m}$ gleivių storį, kuris atitinka in vivo žarnyno aplinką.

Nustatyta, kad HT-29-MTX-E12 funkcinio požiūriu galima modeliuoti žmogaus žarnyno gleivių sluoksniu barjerines savybes, ypač vertinant lipofilinių vaistų absorbciją. Esant storam gleivių barjerui, gerokai sumažėja lipofilinių junginių, tokių kaip testosteronas ir įvairūs barbitūratai, tariamo pralaidumo koeficientai (Papp), palyginti su Caco-2 ląstelėmis be gleivių. Pavyzdžiui, testosterono Papp HT-29-MTX-E12 klotuose sumažėjo 43 %, todėl akivaizdu, kad gleivės turi įtakos vaistų sklaidai. Nepaisant to, kad HT-29-MTX-E12 epitelio barjeras yra nesandaresnis nei Caco-2 ląstelių, HT-29-MTX-E12 išlaiko fiziologinę svarbą dėl savo gebėjimo gaminti gleives, todėl tai yra vertingas in vitro modelis tiriant vaistų absorbciją iš žarnyno ir gleivių įtaką pralaidumui.

Organism

Žmogus

Tissue

Storosios žarnos

Disease

Storosios žarnos adenokarcinoma

Synonyms

HT29-MTX-E12, MTX-E12

Charakteristikos

Age

44 metai

Gender

Moteris

Ethnicity

Kaukaziečių

Cell type

Epitelis

Growth properties

Priglundęs

Reguliavimo duomenys

HT-29 MTX E12 ląstelės | 305801

Citation HT-29-MTX-E12 (Cytion katalogo numeris 305801)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_G356

Biomolekuliniai duomenys

Mutational profile Mutacija: Mutacija, APC, paprasta, p.Glu853Ter (c.2557G>T), heterozigotinė (iš motininės ląstelių linijos). mutacija, APC, paprasta, p.Thr1556Asnfs*3 (c.4666dupA) (c.4666_4667insA), heterozigotinė (iš motininės ląstelių linijos)T>A), heterozigotinė (iš motininės ląstelių linijos).Mutacija, PIK3CA, paprasta, p.Pro449Thr (c.1345C>A), heterozigotinė (iš motininės ląstelių linijos).Mutacija, SMAD4, paprasta, p.Gln311Ter (c.931C>T), homozigotinė (iš tėvinės ląstelių linijos).Mutacija, TP53, paprasta, p.Arg273His (c.818G>A), homozigotinė (iš tėvinės ląstelių linijos).

Tvarkymas

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutaminas, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytion gaminio numeris 820100a)

Supplements Papildykite terpę 10 % FBS ir 1 % NEAA

Dissociation Reagent Accutase

Freeze medium Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

HT-29 MTX E12 ląstelės | 305801

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Kad po atšildymo būtų užtikrintas optimalus prisitvirtinimas ir gyvybingumas, rekomenduojame naudoti **kolagenu dengtas kolbas arba plokšteles**.

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

HT-29 MTX E12 ląstelės | 305801

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150 - 196°C temperatūroje. Laikymas -80°C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystą azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.