

HT-29 MTX E12 šūnas | 305801

Vispārīga informācija

Description

HT-29-MTX-E12 ir goblet šūnu subklons, kas iegūts no cilvēka kolorektālās adenokarcinomas šūnu līnijas HT29, veicot selekciju ar metotreksātu (MTX), kas inducē diferenciaciju uz gļotas izdalošiem fenotipiem. No vairākiem subkloniem, kas izveidoti no HT29-MTX, izceļas subklons E12, jo tam ir spēcīga saplūstošu monoslānīšu veidošanās ar ciešiem savienojumiem un ievērojami biezu, nepārtrauktu gļotu slāni uz apikālās virsmas. Šim subklonam ir lielāks nobriedušu kausiņveida šūnu īpatsvars, kā to pierāda Alcian Blue krāsojums, transmisijas elektronu mikroskopija (TEM) un mucīna gēnu MUC1 un MUC2 ekspresija. Patiesībā MUC1 un MUC2 mRNS līmenis HT-29-MTX-E12 bija ievērojami augstāks salīdzinājumā ar citiem subkloniem un mātes HT29 šūnām, korelējot ar gļotu biežumu aptuveni $142 \pm 51 \mu\text{m}$ - kas atbilst in vivo zarnu videi.

Ir pierādīts, ka funkcionāli HT-29-MTX-E12 var modelēt cilvēka zarnu gļotu slāņa barjeras īpašības, jo īpaši novērtējot lipofilo zāļu uzsūkšanos. Biezas gļotu barjeras klātbūtne ievērojami samazina lipofilo savienojumu, piemēram, testosterona un dažādu barbiturātu, šķīstamās caurlaidības koeficientus (Papp), salīdzinot ar Caco-2 šūnām bez gļotām. Piemēram, testosterons uzrādīja 43 % Papp samazinājumu HT-29-MTX-E12, uzsverot gļotu ietekmi uz zāļu difūziju. Neskatoties uz to, ka HT-29-MTX-E12 epitēlija barjera ir vājāka nekā Caco-2 šūnām, HT-29-MTX-E12 saglabā fizioloģisko nozīmi, pateicoties tās gļotu producēšanas spējai, padarot to par vērtīgu in vitro modeli, lai pētītu zāļu uzsūkšanos zarnās un gļotu ietekmi uz caurlaidību.

Organism

Cilvēks

Tissue

Resnās zarnas

Disease

Resnās zarnas adenokarcinoma

Synonyms

HT29-MTX-E12, MTX-E12

Raksturojums

Age

44 gadi

Gender

Sievietes

Ethnicity

Kaukāzietis

Cell type

Epitēlija

Growth properties

Adherent

Normatīvie dati

HT-29 MTX E12 šūnas | 305801

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

Biomolekulārie dati

Mutational profile	Mutācija: Mutācija, APC, vienkārša, p.Glu853Ter (c.2557G>T), heterozigots (no mātes šūnu līnijas). mutācija, APC, vienkārša, p.Thr1556Asnfs*3 (c.4666dupA) (c.4666_4667insA), heterozigots (no mātes šūnu līnijas)T>A), heterozigotiska (no mātes šūnu līnijas). mutācija, PIK3CA, vienkārša, p.Pro449Thr (c.1345C>A), heterozigotiska (no mātes šūnu līnijas). mutācija, SMAD4, vienkārša, p.Gln311Ter (c.931C>T), homozigotiska (no mātes šūnu līnijas). mutācija, TP53, vienkārša, p.Arg273His (c.818G>A), homozigotiska (no mātes šūnu līnijas).
---------------------------	--

Darbs ar

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-glutamīns, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (Cytion izstrādājuma numurs 820100a)
Supplements	Papildināt barotni ar 10% FBS un 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Freeze medium	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

HT-29 MTX E12 šūnas | 305801

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150°C , lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar $300 \times g$ 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Optimālai piestiprināšanai un dzīvotspējai pēc atkausēšanas ieteicams izmantot **ar kolagēnu pārklātas kolbas vai plates**.

Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78°C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

HT-29 MTX E12 šūnas | 305801

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.