

HT-29 MTX E12-cellen | 305801

Algemene informatie

Description

HT-29-MTX-E12 is een gobletcel-achtige subklon afgeleid van de menselijke colorectale adenocarcinoomcellijn HT29 door selectie met methotrexaat (MTX), een proces dat differentiatie induceert in de richting van slijmsecreterende fenotypen. Van de verschillende subklonen die uit HT29-MTX zijn ontwikkeld, valt de subklon E12 op door zijn robuuste vorming van confluent monolagen met tight junctions en een significant dikke, continue mucuslaag op het apicale oppervlak. Deze subklon heeft een hoger aandeel rijpe gobletcellen, zoals aangetoond door Alcian Blue-kleuring, transmissie-elektronenmicroscopie (TEM) en expressie van de mucinegenen MUC1 en MUC2. MUC1- en MUC2-mRNA-niveaus waren zelfs aanzienlijk hoger in HT-29-MTX-E12 vergeleken met andere subklonen en ouder HT29-cellen, wat correleert met een slijmdikte van ongeveer $142 \pm 51 \mu\text{m}$ - vergelijkbaar met de in vivo darmomgeving.

Functioneel is aangetoond dat HT-29-MTX-E12 de barrière-eigenschappen van de menselijke darmslijmlaag modelleert, met name bij het evalueren van de absorptie van lipofiele geneesmiddelen. De aanwezigheid van een dikke mucusbarrière vermindert de schijnbare permeabiliteitscoëfficiënten (Papp) van lipofiele verbindingen zoals testosteron en verschillende barbituraten aanzienlijk in vergelijking met mucusvrije Caco-2-cellen. Testosteron liet bijvoorbeeld een 43% lagere Papp zien in HT-29-MTX-E12, wat de invloed van mucus op de verspreiding van geneesmiddelen benadrukt. Ondanks het feit dat HT-29-MTX-E12 een lekkendere epitheliale barrière heeft dan Caco-2 cellen, behoudt het fysiologische relevantie door zijn slijmproducerende capaciteit, waardoor het een waardevol in vitro model is voor het onderzoeken van intestinale medicijnabsorptie en de invloed van slijm op permeabiliteit.

Organism

Mens

Tissue

Kolon

Disease

Colonadenocarcinoom

Synonyms

HT29-MTX-E12, MTX-E12

Kenmerken

Age

44 jaar

Gender

Vrouw

Ethnicity

Kaukasisch

Cell type

Epitheel

Growth properties

Aanhangend

HT-29 MTX E12-cellen | 305801

Regelgevende gegevens

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

Biomoleculaire gegevens

Mutational profile	Mutatie: APC, Simple, p.Glu853Ter (c.2557G>T), Heterozygoot (van ouder cellijn). Mutatie: APC, Simple, p.Thr1556Asnfs*3 (c.4666dupA) (c.4666_4667insA), Heterozygoot (van ouder cellijn). Mutatie: BRAF, Simple, p.Val600Glu (c.1799T>A), Heterozygoot (van ouder cellijn). Mutatie: PIK3CA, Eenvoudig, p.Pro449Thr (c.1345C>A), Heterozygoot (van ouder cellijn). Mutatie: SMAD4, Eenvoudig, p.Gln311Ter (c.931C>T), Homozygoot (van oudercellijn). Mutatie: TP53, Eenvoudig, p.Arg273His (c.818G>A), Homozygoot (van oudercellijn).
---------------------------	---

Omgaan met

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamine, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (Cytion artikelnummer 820100a)
Supplements	Vul het medium aan met 10% FBS en 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Freeze medium	Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedum (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

HT-29 MTX E12-cellen | 305801

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij $300 \times g$ om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Geen

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

HT-29 MTX E12-cellen | 305801

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.