

HT-29 MTX E12-celler | 305801

Generell informasjon

Description

HT-29-MTX-E12 er en begercellelignende subklon avledet fra den humane kolorektale adenokarsinomcellelinjen HT29 gjennom seleksjon med metotreksat (MTX), en prosess som induserer differensiering i retning av slimutskillende fenotyper. Blant flere subkloner som er utviklet fra HT29-MTX, skiller subklonen E12 seg ut ved å danne konfluerende monolag med tette overganger og et betydelig tykt, kontinuerlig slimlag på den apikale overflaten. Denne subklonen har en høyere andel modne begerceller, noe som er påvist ved hjelp av Alcian Blue-farging, transmisjonselektronmikroskopi (TEM) og uttrykk av mucingenene MUC1 og MUC2. Faktisk var mRNA-nivåene av MUC1 og MUC2 vesentlig høyere i HT-29-MTX-E12 sammenlignet med andre subkloner og HT29-stamceller, noe som korrelerer med en slimtykkelse på ca. $142 \pm 51 \mu\text{m}$ - sammenlignbart med tarmmiljøet in vivo.

Funksjonelt har HT-29-MTX-E12 vist seg å være en modell for barriereegenskapene til det humane tarmslimlaget, særlig når det gjelder å evaluere absorpsjonen av lipofile legemidler. Tilstedeværelsen av en tykk slimbarriere reduserer den tilsynelatende permeabilitetskoeffisienten (Papp) for lipofile forbindelser som testosteron og ulike barbiturater betydelig sammenlignet med slimfrie Caco-2-celler. For eksempel viste testosteron en 43 % reduksjon i Papp i HT-29-MTX-E12, noe som understreker slimets innvirkning på diffusjonen av legemidler. Til tross for at HT-29-MTX-E12 har en mer lekk epitelbarriere enn Caco-2-celler, opprettholder den fysiologiske relevansen gjennom sin evne til å produsere slim, noe som gjør den til en verdifull in vitro-modell for å undersøke absorpsjon av legemidler i tarmen og slimets innvirkning på permeabiliteten.

Organism

Menneskelig

Tissue

Colon

Disease

Adenokarsinom i tykktarmen

Synonyms

HT29-MTX-E12, MTX-E12

Kjennetegn

Age

44 år

Gender

Kvinne

Ethnicity

Kaukasisk

Cell type

Epitelial

Growth properties

Vedhengende

Regulatoriske data

HT-29 MTX E12-celler | 305801**Citation** HT-29-MTX-E12 (Cytion-katalognummer 305801)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_G356**Biomolekylære data****Mutational profile** Mutasjon: APC, Simple, p.Glu853Ter (c.2557G>T), Heterozygot (fra foreldrecellelinje). Mutasjon, APC, Simple, p.Thr1556Asnfs*3 (c.4666dupA) (c.4666_4667insA), Heterozygot (fra foreldrecellelinje). Mutasjon, BRAF, Simple, p.Val600Glu (c.1799T>A), Heterozygot (fra foreldrenes cellelinje). mutasjon, PIK3CA, Simple, p.Pro449Thr (c.1345C>A), Heterozygot (fra foreldrenes cellelinje). mutasjon, SMAD4, Simple, p.Gln311Ter (c.931C>T), homozygot (fra foreldrenes cellelinje) Mutasjon, TP53, Simple, p.Arg273His (c.818G>A), homozygot (fra foreldrenes cellelinje).**Håndtering****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), m: 2 mM L-Glutamin, m: 2,2 g/L NaHCO₃, m: EBSS (Cytion artikkelnummer 820100a)**Supplements** Suppler mediet med 10 % FBS og 1 % NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Freeze medium** Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoundusert stress.

HT-29 MTX E12-celler | 305801

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

HT-29 MTX E12-celler | 305801

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.