

Komórki HT-29 MTX E12 | 305801**Informacje ogólne****Description**

HT-29-MTX-E12 to podklon komórek kubkowych uzyskany z linii komórkowej HT29 ludzkiego gruczolakoraka jelita grubego poprzez selekcję metotreksatem (MTX), proces, który indukuje różnicowanie w kierunku fenotypów wydzielających śluz. Spośród kilku podklonów opracowanych z HT29-MTX, podklon E12 wyróżnia się silnym tworzeniem zwartych monowarstw ze ścisłymi połączeniami i znacznie grubą, ciągłą warstwą śluzu na powierzchni wierzchołkowej. Podklon ten charakteryzuje się wyższym odsetkiem dojrzałych komórek kubkowych, co wykazano za pomocą barwienia błękitem Alciana, transmisyjnej mikroskopii elektronowej (TEM) oraz ekspresji genów mucyn MUC1 i MUC2. W rzeczywistości poziomy mRNA MUC1 i MUC2 były znacznie wyższe w HT-29-MTX-E12 w porównaniu z innymi podklonami i macierzystymi komórkami HT29, co korelowało z grubością śluzu wynoszącą około $142 \pm 51 \mu\text{m}$ - porównywalną do środowiska jelitowego in vivo.

Wykazano, że funkcjonalnie HT-29-MTX-E12 modeluje właściwości barierowe warstwy śluzu ludzkiego jelita, szczególnie w ocenie wchłaniania leków lipofilowych. Obecność grubej bariery śluzowej znacznie zmniejsza pozorne współczynniki przepuszczalności (Papp) związków lipofilowych, takich jak testosteron i różne barbiturany, w porównaniu z pozbawionymi śluzu komórkami Caco-2. Na przykład testosteron wykazał 43% redukcję Papp w HT-29-MTX-E12, podkreślając wpływ śluzu na dyfuzję leku. Pomimo bardziej nieszczelnej bariery nabłonkowej niż komórki Caco-2, HT-29-MTX-E12 zachowuje znaczenie fizjologiczne dzięki zdolności do produkcji śluzu, co czyni go cennym modelem in vitro do badania wchłaniania leków w jelitach i wpływu śluzu na przepuszczalność.

Organism

Człowiek

Tissue

Colon

Disease

Gruczolakorak okrężnicy

Synonyms

HT29-MTX-E12, MTX-E12

Charakterystyka**Age**

44 lata

Gender

Kobieta

Ethnicity

Kaukaski

Cell type

Nabłonek

Growth properties

Adherent

Dane regulacyjne

Komórki HT-29 MTX E12 | 305801**Citation** HT-29-MTX-E12 (numer katalogowy Cytion 305801)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_G356**Dane biomolekularne****Mutational profile** Mutacja: APC, Simple, p.Glu853Ter (c.2557G>T), Heterozygotyczna (z macierzystej linii komórkowej). Mutacja, APC, Simple, p.Thr1556Asnfs*3 (c.4666dupA) (c.4666_4667insA), Heterozygotyczna (z macierzystej linii komórkowej). Mutacja, BRAF, Simple, p.Val600Glu (c.1799T>A), heterozygotyczna (z macierzystej linii komórkowej). Mutacja, PIK3CA, Simple, p.Pro449Thr (c.1345C>A), heterozygotyczna (z macierzystej linii komórkowej). Mutacja, SMAD4, Simple, p.Gln311Ter (c.931C>T), Homozygotyczna (z macierzystej linii komórkowej). Mutacja, TP53, Simple, p.Arg273His (c.818G>A), Homozygotyczna (z macierzystej linii komórkowej).**Obsługa****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-glutamina, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (numer artykułu Cytion 820100a)**Supplements** Uzupelnic podloze 10% FBS i 1% NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Freeze medium** Jako pozywki do kriokonserwacji uzywamy kompletnej pozywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej zywotnosci po rozmrozeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), ktora zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiakszenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Komórki HT-29 MTX E12 | 305801

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

W celu zapewnienia optymalnego przylegania i żywotności po rozmrożeniu zalecamy stosowanie **kolb lub płytek pokrytych kolagenem**.

Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolkę do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki HT-29 MTX E12 | 305801

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196°C . Przechowywanie w temperaturze -80°C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.