

Celule HT-29 MTX E12 | 305801

Informații generale

Description

HT-29-MTX-E12 este o subclonă asemănătoare celulelor goblet derivată din linia celulară de adenocarcinom colorectal uman HT29 prin selecție cu metotrexat (MTX), un proces care induce diferențierea către fenotipurile secretoare de mucus. Dintre mai multe subclone dezvoltate din HT29-MTX, subclona E12 se evidențiază prin formarea robustă de monocouche confluențe cu joncțiuni strânse și un strat de mucus continuu, semnificativ gros, pe suprafața apicală. Această subclonă prezintă o proporție mai mare de celule goblet mature, după cum demonstrează colorarea cu albastru Alcian, microscopia electronică cu transmisie (TEM) și expresia genelor mucinice MUC1 și MUC2. De fapt, nivelurile de ARNm MUC1 și MUC2 au fost substanțial mai ridicate în HT-29-MTX-E12 comparativ cu alte subclone și celule HT29 parentale, corelate cu o grosime a mucusului de aproximativ $142 \pm 51 \mu\text{m}$ - comparabil cu mediul intestinal in vivo.

Din punct de vedere funcțional, s-a demonstrat că HT-29-MTX-E12 modelează proprietățile de barieră ale stratului de mucus intestinal uman, în special în evaluarea absorbției medicamentelor lipofile. Prezența unei bariere groase de mucus reduce semnificativ coeficienții de permeabilitate aparentă (Papp) ai compușilor lipofili, cum ar fi testosteronul și diverse barbiturice, comparativ cu celulele Caco-2 fără mucus. De exemplu, testosteronul a prezentat o reducere cu 43% a Papp în HT-29-MTX-E12, subliniind impactul mucusului asupra difuziei medicamentului. În ciuda faptului că bariera epitelială este mai permeabilă decât cea a celulelor Caco-2, HT-29-MTX-E12 își păstrează relevanța fiziologică prin capacitatea sa de a produce mucus, ceea ce îl face un model in vitro valoros pentru investigarea absorbției intestinale a medicamentelor și a influenței mucusului asupra permeabilității.

Organism

Om

Tissue

Colon

Disease

Adenocarcinom de colon

Synonyms

HT29-MTX-E12, MTX-E12

Caracteristici

Age

44 de ani

Gender

Femei

Ethnicity

Caucasian

Cell type

Epitelial

Growth properties

Aderent

Celule HT-29 MTX E12 | 305801

Date de reglementare

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

Date biomoleculare

Mutational profile	Mutație: APC, Simplu, p.Glu853Ter (c.2557G>T), Heterozigotă (din linia celulară parentală).Mutație, APC, Simplu, p.Thr1556Asnfs*3 (c.4666dupA) (c.4666_4667insA), Heterozigotă (din linia celulară parentală).Mutație, BRAF, Simplu, p.Val600Glu (c.1799T>A), Heterozigotă (din linia celulară parentală).Mutație, PIK3CA, Simplu, p.Pro449Thr (c.1345C>A), Heterozigotă (din linia celulară parentală).Mutație, SMAD4, Simplu, p.Gln311Ter (c.931C>T), homozigotă (din linia celulară parentală).Mutație, TP53, simplă, p.Arg273His (c.818G>A), homozigotă (din linia celulară parentală).
---------------------------	---

Manipulare

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamină, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (număr articol Cytion 820100a)
Supplements	Suplimentați mediul cu 10% FBS și 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Freeze medium	Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezghețare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanți optimizați și stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea și a reduce stresul indus de criogenie.

Celule HT-29 MTX E12 | 305801

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual.
7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă.
8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosferă umidificată.

Flask Coating

Niciuna

Freezing Procedure

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Shipping Conditions

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Celule HT-29 MTX E12 | 305801

**Storage
Conditions**

Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

Controlul calității / Profil genetic / HLA

Sterility

Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență.

Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.