

**HT-29 MTX E12 Celler | 305801****Allmän information****Description**

HT-29-MTX-E12 är en bägarcellsliknande subklon som härrör från den humana kolorektala adenokarcinomcellinjen HT29 genom selektion med metotrexat (MTX), en process som inducerar differentiering mot slemutsöndrande fenotyper. Bland flera subkloner som utvecklats från HT29-MTX utmärker sig subklonen E12 genom sin robusta bildning av sammanflytande monolager med tight junctions och ett betydligt tjockare, kontinuerligt slemlager på den apikala ytan. Denna subklon har en högre andel mogna bägarceller, vilket framgår av Alcian Blue-färgning, transmissionselektronmikroskopi (TEM) och uttryck av mucinerna MUC1 och MUC2. Faktum är att mRNA-nivåerna för MUC1 och MUC2 var betydligt högre i HT-29-MTX-E12 jämfört med andra subkloner och modercellerna HT29, vilket korrelerade med en slemtjocklek på cirka  $142 \pm 51 \mu\text{m}$  - jämförbart med tarmmiljön in vivo.

Funktionellt har HT-29-MTX-E12 visat sig kunna modellera barriäregenskaperna hos det mänskliga tarmslemmagret, särskilt vid utvärdering av absorptionen av lipofila läkemedel. Närvaron av en tjock slembarriär minskar avsevärt de skenbara permeabilitetskoefficienterna (Papp) för lipofila föreningar som testosteron och olika barbiturater jämfört med slemfria Caco-2-celler. Testosteron uppvisade t.ex. en 43% minskning av Papp i HT-29-MTX-E12, vilket belyser slemmets inverkan på läkemedelsdiffusionen. Trots att HT-29-MTX-E12 har en läckande epitelbarriär jämfört med Caco-2-celler, bibehåller den fysiologiska relevansen genom sin slemproducerande kapacitet, vilket gör den till en värdefull in vitro-modell för att undersöka läkemedelsabsorption i tarmen och slemmets inverkan på permeabiliteten.

**Organism**

Människan

**Tissue**

Kolon

**Disease**

Adenocarcinom i tjocktarmen

**Synonyms**

HT29-MTX-E12, MTX-E12

**Egenskaper****Age**

44 år

**Gender**

Kvinna

**Ethnicity**

Kaukasisk

**Cell type**

Epitelial

**Growth properties**

Följsam

**Lagstadgade uppgifter**

**HT-29 MTX E12 Celler | 305801****Citation** HT-29-MTX-E12 (Cytion katalognummer 305801)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_G356**Biomolekylära data**

**Mutational profile** Mutation, APC, Simple, p.Glu853Ter (c.2557G>T) APC, Simple, p.Glu853Ter (c.2557G>T), Heterozygot (från föräldracellinjen). Mutation, APC, Simple, p.Thr1556Asnfs\*3 (c.4666dupA) (c.4666\_4667insA), Heterozygot (från föräldracellinjen). Mutation, BRAF, Simple, p.Val600Glu (c.1799T>A), Heterozygot (från föräldracellinjen). Mutation, PIK3CA, Simple, p.Pro449Thr (c.1345C>A), Heterozygot (från föräldracellinjen). Mutation, SMAD4, Simple, p.Gln311Ter (c.931) Mutation, TP53, Simple, p.Arg273His (c.818G>A), homozygot (från föräldracellinjen). homozygot (från föräldracellinjen).

**Hantering****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: EBSS (Cytion artikelnummer 820100a)**Supplements** Komplettera mediet med 10% FBS och 1% NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Freeze medium** Som kryokonserveringsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

## HT-29 MTX E12 Celler | 305801

### Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfryst vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeshuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid  $300 \times g$  i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkanter; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , befuktad atmosfär.

### Flask Coating

Ingen

### Freezing Procedure

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

### Shipping Conditions

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

## HT-29 MTX E12 Celler | 305801

### Storage Conditions

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

## Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

### Sterility

Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik.

För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.