

Bunky HT-29 MTX E12 | 305801**Všeobecné informácie****Description**

HT-29-MTX-E12 je subklón podobný pohárikovým bunkám odvodený z bunkovej línie ľudského kolorektálneho adenokarcinómu HT29 selekciou pomocou metotrexátu (MTX), čo je proces, ktorý indukuje diferenciáciu smerom k fenotypom vylučujúcim hlien. Spomedzi niekoľkých subklonov vyvinutých z HT29-MTX vyniká subklón E12 svojou robustnou tvorbou splývajúcich monovrstiev s tesnými spojmi a výrazne hrubou, súvislou vrstvou hlienu na apikálnom povrchu. Tento subklón sa vyznačuje vyšším podielom zreých pohárikových buniek, čo sa preukázalo farbením alcianovou modrou, transmisnou elektrónovou mikroskopiou (TEM) a expresiou mucínových génov MUC1 a MUC2. Hladiny mRNA MUC1 a MUC2 boli v skutočnosti podstatne vyššie v HT-29-MTX-E12 v porovnaní s ostatnými subklonmi a materskými bunkami HT29, čo korelovalo s hrúbkou hlienu približne $142 \pm 51 \mu\text{m}$ - porovnateľnou s črevným prostredím in vivo.

Z funkčného hľadiska sa ukázalo, že HT-29-MTX-E12 modeluje bariérové vlastnosti vrstvy ľudského črevného hlienu, najmä pri hodnotení absorpcie lipofilných liečiv. Prítomnosť hrubej hlienovej bariéry významne znižuje koeficienty zdánlivej permeability (Papp) lipofilných zlúčenín, ako sú testosterón a rôzne barbituráty, v porovnaní s bunkami Caco-2 bez hlienu. Napríklad testosterón vykazoval 43 % zníženie Papp v HT-29-MTX-E12, čo poukazuje na vplyv hlienu na difúziu liečiva. Napriek tomu, že HT-29-MTX-E12 má nepriepustnejšiu epitelovú bariéru ako bunky Caco-2, zachováva si fyziologický význam vďaka svojej schopnosti produkovať hlien, čo z nej robí cenný in vitro model na skúmanie absorpcie liečiv v čreve a vplyvu hlienu na permeabilitu.

Organism

Ľudské

Tissue

Colon

Disease

Adenokarcinóm hrubého čreva

Synonyms

HT29-MTX-E12, MTX-E12

Charakteristika**Age**

44 rokov

Gender

Ženy

Ethnicity

Kaukazský

Cell type

Epitelové

Growth properties

Adherent

Regulačné údaje

Bunky HT-29 MTX E12 | 305801**Citation** HT-29-MTX-E12 (katalógové číslo Cytion 305801)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_G356**Biomolekulárne údaje****Mutational profile** Mutácia: Mutácia, APC, Simple, p.Glu853Ter (c.2557G>T), heterozygotná (z materskej bunkovej línie). Mutácia, APC, Simple, p.Thr1556Asnfs*3 (c.4666dupA) (c.4666_4667insA), heterozygotná (z materskej bunkovej línie). Mutácia, BRAF, Simple, p.Val600Glu (c.1799T>A), heterozygotná (z materskej bunkovej línie). mutácia, PIK3CA, jednoduchá, p.Pro449Thr (c.1345C>A), heterozygotná (z materskej bunkovej línie). mutácia, SMAD4, jednoduchá, p.Gln311Ter (c.931Mutácia, TP53, Simple, p.Arg273His (c.818G>A), Homozygotná (z materskej bunkovej línie).**Spracovanie****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamín, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytion číslo článku 820100a)**Supplements** Doplňte médium o 10% FBS a 1% NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Freeze medium** Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10% DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

Bunky HT-29 MTX E12 | 305801

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri $300 \times g$ počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žiadne

Freezing Procedure

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Bunky HT-29 MTX E12 | 305801

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.