

HT-29 MTX E12 celice | 305801

Splošne informacije

Description

HT-29-MTX-E12 je subklon, podoben gobletnim celicam, pridobljen iz celične linije HT29 človeškega kolorektalnega adenokarcinoma s selekcijo z metotreksatom (MTX), ki povzroči diferenciacijo v fenotipe, ki izločajo sluz. Med več podkloni, razvitimi iz HT29-MTX, izstopa podklon E12, ki se odlikuje po močni tvorbi konfluentnih monoslojev s tesnimi stiki in precej debelim, neprekinjenim slojem sluzi na apikalni površini. Ta podklon ima večji delež zrelih gobletnih celic, kar dokazujejo barvanje z alcianovim modrim, transmisijska elektronska mikroskopija (TEM) in izražanje mucinskih genov MUC1 in MUC2. Ravni mRNA MUC1 in MUC2 sta bili v HT-29-MTX-E12 v primerjavi z drugimi podkloni in matičnimi celicami HT29 bistveno višji, kar je povezano z debelino sluzi približno $142 \pm 51 \mu\text{m}$ - primerljivo s črevesnim okoljem in vivo.

Funkcionalno se je izkazalo, da HT-29-MTX-E12 modelira zaporne lastnosti plasti človeške črevesne sluzi, zlasti pri ocenjevanju absorpcije lipofilnih zdravil. Prisotnost debele sluzaste pregrade znatno zmanjša koeficiente navidezne prepustnosti (Papp) lipofilnih spojin, kot so testosteron in različni barbiturati, v primerjavi s celicami Caco-2 brez sluzi. Na primer, pri testosteronu se je Papp v HT-29-MTX-E12 zmanjšal za 43 %, kar kaže na vpliv sluzi na difuzijo zdravil. Kljub temu, da ima HT-29-MTX-E12 bolj prepustno epiteljsko pregrado kot celice Caco-2, ohranja fiziološki pomen zaradi svoje sposobnosti proizvodnje sluzi, zato je dragocen in vitro model za raziskovanje absorpcije zdravil v črevesju in vpliva sluzi na prepustnost.

Organism

Človek

Tissue

Debelo črevo

Disease

Adenokarcinom debelega črevesa

Synonyms

HT29-MTX-E12, MTX-E12

Značilnosti

Age

44 let

Gender

Ženske

Ethnicity

Kavkaški

Cell type

Epiteljski

Growth properties

Pripadajoče

Regulativni podatki

HT-29 MTX E12 celice | 305801

Citation HT-29-MTX-E12 (katalogška številka Cytion 305801)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_G356

Biomolekularni podatki

Mutational profile Mutacija: Mutacija, APC, Simple, p.Glu853Ter (c.2557G>T), heterozigotna (iz matične celične linije). Mutacija, APC, Simple, p.Thr1556Asnfs*3 (c.4666dupA) (c.4666_4667insA), heterozigotna (iz matične celične linije). Mutacija, BRAF, Simple, p.Val600Glu (c.1799T>A), heterozigotna (iz matične celične linije). mutacija, PIK3CA, enostavna, p.Pro449Thr (c.1345C>A), heterozigotna (iz matične celične linije). mutacija, SMAD4, enostavna, p.Gln311Ter (c.931C>T), homozigotna (iz matične celične linije). mutacija, TP53, enostavna, p.Arg273His (c.818G>A), homozigotna (iz matične celične linije).

Ravnanje s spletno stranjo

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (številka izdelka Cytion 820100a)

Supplements Gojišče dopolnite z 10 % FBS in 1 % NEAA

Dissociation Reagent Accutase

Freeze medium Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (katalogška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročene s kriom.

HT-29 MTX E12 celice | 305801

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu krioviala takoj shranite pri temperaturi pod $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $300 \times g$ 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Flask Coating

Za optimalno pritrnitev in sposobnost preživetja po odmrznitvi priporočamo uporabo s **kolagenom prevlečenih bučk ali plošč**.

Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

HT-29 MTX E12 celice | 305801

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78°C . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vialo postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196°C . Shranjevanje pri -80°C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.