

HT-29 MTX E12 Hücreleri | 305801

Genel bilgi

Description

HT-29-MTX-E12, mukus salgılayan fenotiplere doğru farklılaşmayı indükleyen bir süreç olan metotreksat (MTX) ile seleksiyon yoluyla insan kolorektal adenokarsinom hücre hattı HT29'dan türetilen goblet hücre benzeri bir alt klonudur. HT29-MTX'ten geliştirilen çeşitli alt klonlar arasında E12 alt klonu, sıkı bağlantılar ve apikal yüzeyde önemli ölçüde kalın, sürekli bir mukus tabakası ile birleşmiş monolayerlerin sağlam oluşumu nedeniyle öne çıkmaktadır. Bu alt klon, Alcian Mavisi boyama, transmisyon elektron mikroskobu (TEM) ve müsin genleri MUC1 ve MUC2 ekspresyonu ile gösterildiği gibi daha yüksek oranda olgun goblet hücresine sahiptir. Aslında, MUC1 ve MUC2 mRNA seviyeleri HT-29-MTX-E12'de diğer alt klonlara ve ana HT29 hücrelerine kıyasla önemli ölçüde daha yüksekti ve in vivo bağırsak ortamıyla karşılaştırılabilir şekilde yaklaşık $142 \pm 51 \mu\text{m}$ 'lik bir mukus kalınlığıyla ilişkiliydi.

İşlevsel olarak HT-29-MTX-E12'nin, özellikle lipofilik ilaçların emiliminin değerlendirilmesinde, insan bağırsak mukus tabakasının bariyer özelliklerini modellediği gösterilmiştir. Kalın bir mukus bariyerinin varlığı, mukus içermeyen Caco-2 hücrelerine kıyasla testosteron ve çeşitli barbitüratlar gibi lipofilik bileşiklerin görünür geçirgenlik katsayılarını (Papp) önemli ölçüde azaltır. Örneğin, testosteron HT-29-MTX-E12'de Papp'de %43'lük bir azalma göstererek mukusun ilaç difüzyonu üzerindeki etkisini vurgulamıştır. HT-29-MTX-E12, Caco-2 hücrelerinden daha sızdıran bir epitel bariyerine sahip olmasına rağmen, mukus üretme kapasitesi sayesinde fizyolojik uygunluğunu korumakta ve bu da onu bağırsak ilaç emilimini ve mukusun geçirgenlik üzerindeki etkisini araştırmak için değerli bir in vitro model haline getirmektedir.

Organism İnsan

Tissue Kolon

Disease Kolon adenokarsinomu

Synonyms HT29-MTX-E12, MTX-E12

Özellikler

Age 44 yıl

Gender Kadın

Ethnicity Kafkas

Cell type Epitelyal

Growth properties Yapışık

Düzenleyici Veriler

HT-29 MTX E12 Hücreleri | 305801

Citation HT-29-MTX-E12 (Cytion katalog numarası 305801)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_G356

Biyomoleküler Veriler

Mutational profile Mutasyon: APC, Simple, p.Glu853Ter (c.2557G>T), Heterozigot (ana hücre hattından).Mutasyon, APC, Simple, p.Thr1556Asnfs*3 (c.4666dupA) (c.4666_4667insA), Heterozigot (ana hücre hattından).Mutasyon, BRAF, Simple, p.Val600Glu (c.1799T>A), Heterozigot (ana hücre hattından).mutasyon, PIK3CA, Basit, p.Pro449Thr (c.1345C>A), Heterozigot (ana hücre hattından).mutasyon, SMAD4, Basit, p.Gln311Ter (c.931Mutasyon, TP53, Basit, p.Arg273His (c.818G>A), Homozigot (ana hücre hattından).

Elleçleme

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

Supplements Ortamı %10 FBS ve %1 NEAA ile takviye edin

Dissociation Reagent Accutase

Freeze medium Kriyoprezervasyon ortamı olarak, yeterli çözülme sonrası canlılık için tam büyüme ortamı (FBS dahil) + %10 DMSO veya iyileşmeyi artırmak ve kriyo-indüklenmiş stresi azaltmak için optimize edilmiş ozmoprotektanlar ve metabolik stabilizatörler içeren CM-1 (Cytion katalog numarası 800100) kullanıyoruz.

HT-29 MTX E12 Hücreleri | 305801

Thawing and Culturing Cells

1. Hücreler taşıma sırasında optimum sıcaklıkları korumak için kuru buz üzerinde gönderildiğinden, flakonun teslimat sırasında derin dondurulmuş halde kaldığını teyit edin.
2. Teslim aldıktan sonra, hücresel bütünlüğün korunmasını sağlamak için kriyovialı hemen -150°C'nin altındaki sıcaklıklarda saklayın veya hemen kültürleme gerekiyorsa 3. adıma geçin.
3. Derhal kültürleme için flakonun temiz su ve antimikrobiyal bir madde içeren 37°C'lik bir su banyosuna daldırıp küçük bir buz kümesi kalana kadar 40-60 saniye boyunca hafifçe çalkalayarak hızlıca çözün.
4. Sonraki tüm adımları steril koşullar altında bir akış başlığı içinde gerçekleştirin ve açmadan önce kriyoviyalleri %70 etanol ile dezenfekte edin.
5. Dezenfekte edilmiş flakonun dikkatlice açın ve hücre süspansiyonunu 8 ml oda sıcaklığında kültür ortamı içeren 15 ml'lik bir santrifüj tüpüne aktarın ve hafifçe karıştırın.
6. Hücreleri ayırmak için karışımı 300 x g'de 3 dakika santrifüjleyin ve artık dondurma ortamı içeren süpernatantı dikkatlice atın.
7. Hücre pelletini 10 ml taze kültür ortamında yavaşça yeniden süspanse edin. Yapışık hücreler için, süspansiyonu iki T25 kültür şişesi arasında bölün; süspansiyon kültürleri için, etkili hücre etkileşimini ve büyümesini teşvik etmek üzere tüm ortamı tek bir T25 şişesine aktarın.
8. Hücre hattının sürekli büyümesi ve bakımı için belirlenmiş alt kültür protokollerine uyun ve güvenilir deneysel sonuçlar elde edin.

Incubation Atmosphere

37°C, %5_{CO2}, nemlendirilmiş atmosfer.

Flask Coating

Çözüldükten sonra optimum tutunma ve canlılık için **Kolajen kaplı flasklar veya plakalar** kullanmanızı öneririz.

Freezing Procedure

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

Shipping Conditions

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

HT-29 MTX E12 Hücreleri | 305801

Storage Conditions

Uzun süreli muhafaza için flakonları yaklaşık -150 ila -196 °C'de buhar fazlı sıvı nitrojen içine yerleştirin. 80 °C'de saklama yalnızca sıvı nitrojene aktarılmadan önce kısa bir ara adım olarak kabul edilebilir.

Kalite kontrol / Genetik profil / HLA

Sterility

Mikoplazma kontaminasyonu hem PCR tabanlı tahliller hem de lüminesans tabanlı mikoplazma tespit yöntemleri kullanılarak dışlanır.

Bakteriyel, fungal veya maya kontaminasyonu olmadığından emin olmak için hücre kültürleri günlük görsel incelemelere tabi tutulur.