

## Елементи HT-29 MTX E12 | 305801

## Загальна інформація

## Description

HT-29-MTX-E12 - це келихоподібний субклон, отриманий з клітинної лінії колоректальної аденокарциноми людини HT29 шляхом селекції метотрексатом (MTX) - процесу, який індукує диференціацію в бік фенотипів, що секретують слиз. Серед кількох субклонів, отриманих з HT29-MTX, субклон E12 виділяється завдяки потужному утворенню моношарів, що зливаються, з щільними з'єднаннями і значно товстим, безперервним шаром слизу на апікальній поверхні. Цей субклон характеризується більшою часткою зрілих келихоподібних клітин, що демонструється забарвленням альціановим синім, трансмісійною електронною мікроскопією (ТЕМ) та експресією генів муцинів MUC1 і MUC2. Насправді, рівні мРНК MUC1 і MUC2 були значно вищими в HT-29-MTX-E12 порівняно з іншими субклонами і материнськими клітинами HT29, що корелювало з товщиною слизу приблизно  $142 \pm 51$  мкм - порівняно з кишковим середовищем *in vivo*.

Показано, що функціонально HT-29-MTX-E12 моделюють бар'єрні властивості слизового шару кишечника людини, зокрема, при оцінці всмоктування ліпофільних препаратів. Наявність товстого слизового бар'єру значно знижує коефіцієнти видимої проникності (Papp) ліпофільних сполук, таких як тестостерон і різні барбітурати, порівняно з клітинами Caco-2 без слизу. Наприклад, тестостерон показав зниження Papp на 43% в HT-29-MTX-E12, що підкреслює вплив слизу на дифузію ліків. Незважаючи на те, що епітеліальний бар'єр HT-29-MTX-E12 є більш негерметичним, ніж у клітин Caco-2, він зберігає фізіологічну релевантність завдяки здатності продукувати слиз, що робить його цінною моделлю *in vitro* для дослідження всмоктування ліків у кишечнику та впливу слизу на проникність.

<b>Organism</b>	Людина
<b>Tissue</b>	Двоєточие
<b>Disease</b>	Аденокарцинома товстої кишки
<b>Synonyms</b>	HT29-MTX-E12, MTX-E12

## Характеристики

<b>Age</b>	44 роки
<b>Gender</b>	Жінка
<b>Ethnicity</b>	Кавказець
<b>Cell type</b>	Епітеліальний
<b>Growth properties</b>	Адепт

## Елементи HT-29 MTX E12 | 305801

## Нормативні дані

<b>Citation</b>	HT-29-MTX-E12 (номер за каталогом Cytion 305801)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_G356

## Біомолекулярні дані

<b>Mutational profile</b>	Мутація: APC, Simple, p.Glu853Ter (с.2557G>T), гетерозиготний (з батьківської лінії). Мутація: APC, Simple, p.Thr1556Asnfs*3 (с.4666dupA) (с.4666_4667insA), гетерозиготний (з батьківської лінії). Мутація: BRAF, Simple, p.Val600Glu (с.1799T>A), гетерозиготний (з батьківської лінії). мутація, PIK3CA, простий, p.Pro449Thr (с.1345C>A), гетерозиготний (з батьківської лінії). мутація, SMAD4, простий, p.Gln311Ter (с.931C>T), гомозиготний (з батьківської лінії). мутація, TP53, простий, p.Arg273His (с.818G>A), гомозиготний (з батьківської лінії). мутація, SMAD4, простий, p.Gln311Ter (с.931C>T), гомозиготний (з батьківської лінії).
---------------------------	---

## Обробка

<b>Culture Medium</b>	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-глутамін, w: 2,2 г/л NaHCO <sub>3</sub> , w: EBSS (цит. номер 820100a)
<b>Supplements</b>	Додайте до середовища 10% FBS та 1% NEAA
<b>Dissociation Reagent</b>	Аккутаза
<b>Freeze medium</b>	Як середовище криоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення криоіндукованого стресу.

## Елементи HT-29 MTX E12 | 305801

**Thawing and  
Culturing Cells**

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте криовіал при температурі нижче  $-150^{\circ}\text{C}$ , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануливши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі  $37^{\circ}\text{C}$ , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи криовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при  $300 \times g$  протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтеся встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

**Incubation  
Atmosphere**

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , волога атмосфера.

**Flask Coating**

Для оптимального прикріплення та життєздатності після розморожування ми рекомендуємо використовувати **колби або пластини з колагеновим покриттям**.

**Freezing  
Procedure**

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно  $-78^{\circ}\text{C}$  під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

## Елементи HT-29 MTX E12 | 305801

### Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірених ізольованих упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно  $-78^{\circ}\text{C}$  під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

### Storage Conditions

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від  $-150$  до  $-196^{\circ}\text{C}$ . Зберігання при  $-80^{\circ}\text{C}$  допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

## Контроль якості / Генетичний профіль / HLA

### Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.