Product sheet

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 (TEM) 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 ± 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.
Organism	Людина
Tissue	Двоєточие
Disease	Аденокарцинома товстої кишки
Synonyms	HT29-MTX-E12, MTX-E12

Характеристики

Age	44 роки
Gender	Жінка
Ethnicity	Кавказець
Cell type	Епітеліальний
Growth properties	Адепт

Елементи HT-29 MTX E12 | 305801

Нормативні дані

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

Біомолекулярні дані

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

Обробка

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 мМ L-глутамін, w: 2,2 г/л NaHCO3, w: EBSS (цит. номер 820100a)
Supplements	Додайте до середовища 10% FBS та 1% NEAA
Dissociation Reagent	Аккутаза
Freeze medium	Як середовище кріоконсервування 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 кріоіндукованого 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 кріовіал при температурі нижче -150°C, щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.

3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануривши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°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 кріовіал 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 x 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. Дотримуйтесь встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% $_{CO2}$, волога атмосфера.

Flask Coating

Hi

Freezing Procedure

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °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 перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і без зволікань перемістіть флакони у відповідне місце зберігання.
Storage Conditions	Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості та молекулярний аналіз

Sterility	Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми. Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибкового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.