HT-29-MTX-E12

305801

ALGEMENE INFORMATIE

Beschrijving

HT-29-MTX-E12 is een gobletcel-achtige subklon afgeleid van de menselijke colorectale adenocarcinoomcellijn HT29 door selectie met methotrexaat (MTX), een proces dat differentiatie induceert in de richting van slijmsecreterende fenotypen. Van de verschillende subklonen die uit HT29-MTX zijn ontwikkeld, valt de subklon E12 op door zijn robuuste vorming van confluente monolagen met tight junctions en een significant dikke, continue mucuslaag op het apicale oppervlak. Deze subklon heeft een hoger aandeel rijpe gobletcellen, zoals aangetoond door Alcian Blue-kleuring, transmissie-elektronenmicroscopie (TEM) en expressie van de mucinegenen MUC1 en MUC2. MUC1- en MUC2-mRNA-niveaus waren zelfs aanzienlijk hoger in HT-29-MTX-E12 vergeleken met andere subklonen en ouder HT29-cellen, wat correleert met een slijmdikte van ongeveer 142 ± 51 µm - vergelijkbaar met de in vivo darmomgeving.
Functioneel is aangetoond dat HT-29-MTX-E12 de barrière-eigenschappen van de menselijke darmslijmlaag modelleert, met name bij het evalueren van de absorptie van lipofiele geneesmiddelen. De aanwezigheid van een dikke mucusbarrière vermindert de schijnbare permeabiliteitscoëfficiënten (Papp) van lipofiele verbindingen zoals testosteron en verschillende barbituraten aanzienlijk in vergelijking met mucusvrije Caco-2-cellen. Testosteron liet bijvoorbeeld een 43% lagere Papp zien in HT-29-MTX-E12, wat de invloed van mucus op de verspreiding van geneesmiddelen benadrukt. Ondanks het feit dat HT-29-MTX-E12 een lekkendere epitheliale barrière heeft dan Caco-2 cellen, behoudt het fysiologische relevantie door zijn slijmproducerende capaciteit, waardoor het een waardevol in vitro model is voor het onderzoeken van intestinale medicijnabsorptie en de invloed van slijm op permeabiliteit.

Weefsel	Kolon
Ziekte	Colonadenocarcinoom

Synoniemen

- HT29-MTX-E12
- MTX-E12

CLASSIFICATIE

Organisme	Mens
Seks	Vrouw
Groei-eigenschappen	Aanhanger
Bioveiligheidsniveau	1

KENMERKEN

Celtype	Epitheel

IDENTIFICATIEGEGEVENS

Bronvermelding

HT-29-MTX-E12 (Cytion catalogusnummer 305801)

NCBI-belastingnummer	9606
Cellosaurus	CVCL_G356

EXPRESSIE EN VATBAARHEID

Mutatieprofiel

Mutatie: APC, Simple, p.Glu853Ter (c.2557G>T), Heterozygoot (van ouder cellijn).Mutatie, APC, Simple, p.Thr1556Asnfs*3 (c.4666dupA) (c.4666_4667insA), Heterozygoot (van ouder cellijn).Mutatie, BRAF, Simple, p.Val600Glu (c.1799T>A), Heterozygoot (van ouder cellijn).Mutatie, PIK3CA, Eenvoudig, p.Pro449Thr (c.1345C>A), Heterozygoot (van ouder cellijn).Mutatie, SMAD4, Eenvoudig, p.Gln311Ter (c.931C>T), Homozygoot (van oudercellijn).Mutatie, TP53, Eenvoudig, p.Arg273His (c.818G>A), Homozygoot (van oudercellijn).

BEHANDELING EN KWEEK

Kweekmedium

EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamine, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (Cytion artikelnummer 820100a)

Incubatieomgeving	37°C, 5%CO2, bevochtigde atmosfeer.

Supplementen

Vul het medium aan met 10% FBS en 1% NEAA

Dissociatiereagens	Accutase

Ontdooien en kweken

Confirm that the vial remains deeply frozen upon delivery, as cells are shipped on dry ice to maintain optimal temperatures during transit. Upon receipt, either store the cryovial immediately at temperatures below -150°C to ensure the preservation of cellular integrity, or proceed to step 3 if immediate culturing is required.
For immediate culturing, swiftly thaw the vial by immersing it in a 37°C water bath with clean water and an antimicrobial agent, agitating gently for 40-60 seconds until a small ice clump remains.
Perform all subsequent steps under sterile conditions in a flow hood, disinfecting the cryovial with 70% ethanol before opening.
Carefully open the disinfected vial and transfer the cell suspension into a 15 ml centrifuge tube containing 8 ml of room-temperature culture medium, mixing gently.
Centrifuge the mixture at 300 x g for 3 minutes to separate the cells and carefully discard the supernatant containing residual freezing medium.
Gently resuspend the cell pellet in 10 ml of fresh culture medium. For adherent cells, divide the suspension between two T25 culture flasks; for suspension cultures, transfer all the medium into one T25 flask to promote effective cell interaction and growth.
Adhere to established subculture protocols for continued growth and maintenance of the cell line, ensuring reliable experimental outcomes.

KWALITEITSCONTROLE EN CRYOPRESERVATIE

Onvruchtbaarheid

Mycoplasmaverontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasmadetectiemethoden.
Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.

Kweekmedium invriezen	Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedium (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

Opslagvoorwaarden

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Verzendvoorwaarden

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

DONATEUR

Leeftijd van de donor	44 jaar
Etnische afkomst	Kaukasisch

JURIDISCHE EN VEILIGHEIDSASPECTEN

Veiligheidsmaatregelen

Wanneer men van plan is om een cryovial in vloeibare stikstof op te slaan om later te ontdooien, is het verplicht om strenge veiligheidsmaatregelen in acht te nemen. Passende beschermende handschoenen en kleding zijn essentieel en het gebruik van een gezichtsmasker of veiligheidsbril is vereist tijdens het overbrengen van bevroren monsters naar of uit de tank met vloeibare stikstof. Dit is om het risico op letsel door mogelijke cryoviale explosies bij het verwijderen te beperken, wat kan resulteren in de projectie van scherpe fragmenten.

Disclaimer

Onze cellen worden uitsluitend geleverd voor in vitro laboratoriumonderzoek en zijn niet bedoeld voor klinisch of diagnostisch gebruik, noch mogen ze worden toegediend aan mensen of worden gebruikt voor veterinaire doeleinden. Gebruikers moeten zich houden aan alle toepasselijke richtlijnen en voorschriften voor het hanteren en gebruiken van deze cellen in een onderzoeksomgeving.

Garantie

Bij Cytion staan we achter de kwaliteit en levensvatbaarheid van onze producten.
We garanderen dat onze cellen levensvatbaar zijn bij het begin van de kweek gedurende 60 dagen na verzending vanuit onze faciliteiten.
We verzekeren dat alle materialen voldoen aan de specificaties beschreven in het analysecertificaat en/of productblad
Raadpleeg voor volledige informatie onze <a href=""/Wie-zijn-wij/Garantie/"" hreflang=""x-default"">Garantieverklaring

Er is een overeenkomst inzake materiaaloverdracht vereist	Yes

Cytion GmbH
Nikola-Tesla-Str. 3
69124 Heidelberg
Tel: +49 (0)6221 405780
info@cytion.com
cytion.com

Registered office Heidelberg
VAT ID: DE283292917
Local court Mannheim - HRB 714394
CEO / Geschäftsführer: Jonathan Steubing

Banking information
Sparkasse Heidelberg
IBAN: DE35 6725 0020 0009 2076 86
BIC: SOLADES1HDB