HT-29-MTX-E12

305801

INFORMACJE OGÓLNE

Opis

HT-29-MTX-E12 to podklon komórek kubkowych uzyskany z linii komórkowej HT29 ludzkiego gruczolakoraka jelita grubego poprzez selekcję metotreksatem (MTX), proces, który indukuje różnicowanie w kierunku fenotypów wydzielających śluz. Spośród kilku podklonów opracowanych z HT29-MTX, podklon E12 wyróżnia się silnym tworzeniem zwartych monowarstw ze ścisłymi połączeniami i znacznie grubą, ciągłą warstwą śluzu na powierzchni wierzchołkowej. Podklon ten charakteryzuje się wyższym odsetkiem dojrzałych komórek kubkowych, co wykazano za pomocą barwienia błękitem Alciana, transmisyjnej mikroskopii elektronowej (TEM) oraz ekspresji genów mucyn MUC1 i MUC2. W rzeczywistości poziomy mRNA MUC1 i MUC2 były znacznie wyższe w HT-29-MTX-E12 w porównaniu z innymi podklonami i macierzystymi komórkami HT29, co korelowało z grubością śluzu wynoszącą około 142 ± 51 µm - porównywalną do środowiska jelitowego in vivo.
Wykazano, że funkcjonalnie HT-29-MTX-E12 modeluje właściwości barierowe warstwy śluzu ludzkiego jelita, szczególnie w ocenie wchłaniania leków lipofilowych. Obecność grubej bariery śluzowej znacznie zmniejsza pozorne współczynniki przepuszczalności (Papp) związków lipofilowych, takich jak testosteron i różne barbiturany, w porównaniu z pozbawionymi śluzu komórkami Caco-2. Na przykład testosteron wykazał 43% redukcję Papp w HT-29-MTX-E12, podkreślając wpływ śluzu na dyfuzję leku. Pomimo bardziej nieszczelnej bariery nabłonkowej niż komórki Caco-2, HT-29-MTX-E12 zachowuje znaczenie fizjologiczne dzięki zdolności do produkcji śluzu, co czyni go cennym modelem in vitro do badania wchłaniania leków w jelitach i wpływu śluzu na przepuszczalność.

Chusteczka	Colon
Choroba	Gruczolakorak okrężnicy

Synonimy

- HT29-MTX-E12
- MTX-E12

KLASYFIKACJA

Organizm	Człowiek
Seks	Kobieta
Właściwości związane ze wzrostem	Zwolennik
Poziom bezpieczeństwa biologicznego	1

CECHY CHARAKTERYSTYCZNE

Typ komórki	Nabłonek

IDENTYFIKATORY

Źródło

HT-29-MTX-E12 (numer katalogowy Cytion 305801)

Numer identyfikacji podatkowej NCBI	9606
Cellosaurus	CVCL_G356

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

EKSPRESJA I PODATNOŚĆ

Profil mutacji

Mutacja: APC, Simple, p.Glu853Ter (c.2557G>T), Heterozygotyczna (z macierzystej linii komórkowej).Mutacja, APC, Simple, p.Thr1556Asnfs*3 (c.4666dupA) (c.4666_4667insA), Heterozygotyczna (z macierzystej linii komórkowej).Mutacja, BRAF, Simple, p.Val600Glu (c.1799T>A), heterozygotyczna (z macierzystej linii komórkowej).Mutacja, PIK3CA, Simple, p.Pro449Thr (c.1345C>A), heterozygotyczna (z macierzystej linii komórkowej).Mutacja, SMAD4, Simple, p.Gln311Ter (c.931C>T), Homozygotyczna (z macierzystej linii komórkowej).Mutacja, TP53, Simple, p.Arg273His (c.818G>A), Homozygotyczna (z macierzystej linii komórkowej).

POSTĘPOWANIE I HODOWLA

Pożywka hodowlana

EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-glutamina, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (numer artykułu Cytion 820100a)

Atmosfera inkubacyjna	37°C, 5%CO2, nawilżona atmosfera.

Suplementy

Uzupełnić podłoże 10% FBS i 1% NEAA

Odczynnik dysocjacyjny	Accutase

Rozmrażanie i hodowla

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.

KONTROLA JAKOŚCI I KRIOKONSERWACJA

Bezpłodność

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.
Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

Pożywka do zamrażania	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Warunki przechowywania

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Warunki wysyłki

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

DARCZYŃCA

Wiek dawcy	44 lata
Pochodzenie etniczne	Kaukaski

KWESTIE PRAWNE I BEZPIECZEŃSTWO

Środki bezpieczeństwa

Planując przechowywanie kriofiolek w ciekłym azocie w celu ich późniejszego rozmrożenia, należy bezwzględnie przestrzegać rygorystycznych środków bezpieczeństwa. Niezbędne są odpowiednie rękawice i odzież ochronna, a podczas przenoszenia zamrożonych próbek do lub ze zbiornika z ciekłym azotem wymagane jest stosowanie maski lub okularów ochronnych. Ma to na celu zmniejszenie ryzyka obrażeń spowodowanych potencjalnymi eksplozjami kriowialu podczas wyjmowania, które mogą skutkować wyrzuceniem ostrych fragmentów.

Zastrzeżenie

Nasze komórki są dostarczane wyłącznie do celów badań laboratoryjnych in vitro i nie są przeznaczone do użytku klinicznego lub diagnostycznego, nie mogą być podawane ludziom ani wykorzystywane do celów weterynaryjnych. Użytkownicy muszą przestrzegać wszystkich obowiązujących wytycznych i przepisów dotyczących obchodzenia się z tymi komórkami i korzystania z nich w środowisku badawczym.

Gwarancja

W Cytion gwarantujemy jakość i żywotność naszych produktów.
Gwarantujemy, że nasze komórki będą żywotne na początku hodowli przez 60 dni po wysyłce z naszych zakładów.
Zapewniamy, że wszystkie materiały są zgodne ze specyfikacjami opisanymi w certyfikacie analizy i/lub karcie produktu
Szczegółowe informacje można znaleźć w naszej <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Oświadczeniu gwarancyjnym

Wymagana umowa o transferze materiałów	Yes