HT-29-MTX-E12

305801

INFORMAÇÕES GERAIS

Descrição

HT-29-MTX-E12 é um subclone semelhante a células caliciformes derivado da linha celular de adenocarcinoma colorrectal humano HT29 através da seleção com metotrexato (MTX), um processo que induz a diferenciação para fenótipos secretores de muco. Entre os vários subclones desenvolvidos a partir de HT29-MTX, o subclone E12 destaca-se pela sua formação robusta de monocamadas confluentes com junções apertadas e uma camada de muco contínua e significativamente espessa na superfície apical. Este subclone apresenta uma maior proporção de células caliciformes maduras, como demonstrado pela coloração com Alcian Blue, pela microscopia eletrónica de transmissão (TEM) e pela expressão dos genes da mucina MUC1 e MUC2. De facto, os níveis de ARNm de MUC1 e MUC2 foram substancialmente mais elevados em HT-29-MTX-E12 em comparação com outros subclones e células HT29 progenitoras, correlacionando-se com uma espessura de muco de aproximadamente 142 ± 51 µm-comparável com o ambiente intestinal in vivo.
Funcionalmente, a HT-29-MTX-E12 demonstrou modelar as propriedades de barreira da camada de muco intestinal humano, particularmente na avaliação da absorção de fármacos lipofílicos. A presença de uma barreira mucosa espessa reduz significativamente os coeficientes de permeabilidade aparente (Papp) de compostos lipofílicos, como a testosterona e vários barbitúricos, quando comparados com células Caco-2 sem muco. Por exemplo, a testosterona apresentou uma redução de 43% no Papp em HT-29-MTX-E12, realçando o impacto do muco na difusão do fármaco. Apesar de ter uma barreira epitelial mais permeável do que as células Caco-2, o HT-29-MTX-E12 mantém a sua relevância fisiológica através da sua capacidade de produção de muco, o que o torna um modelo in vitro valioso para investigar a absorção intestinal de fármacos e a influência do muco na permeabilidade.

Tecido	Cólon
Doença	Adenocarcinoma do cólon

Sinónimos

- HT29-MTX-E12
- MTX-E12

CLASSIFICAÇÃO

Organismo	Humano
Sexo	Feminino
Propriedades de crescimento	Aderente
Nível de biossegurança	1

CARACTERÍSTICAS

Tipo de célula	Epitelial

IDENTIFICADORES

Referência

HT-29-MTX-E12 (número de catálogo Cytion 305801)

Número de identificação fiscal do 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

EXPRESSÃO E SUSCETIBILIDADE

Perfil mutacional

Mutação: APC, Simples, p.Glu853Ter (c.2557G>T), Heterozigótica (da linha celular parental).Mutação, APC, Simples, p.Thr1556Asnfs*3 (c.4666dupA) (c.4666_4667insA), Heterozigótica (da linha celular parental).Mutação, BRAF, Simples, p.Val600Glu (c.1799T>A), Heterozigótica (da linha celular parental).Mutação, PIK3CA, Simples, p.Pro449Thr (c.1345C>A), Heterozigótica (da linha celular parental).Mutação, SMAD4, Simples, p.Gln311Ter (c.931C>T), Homozigótica (da linha celular parental).Mutação, TP53, Simples, p.Arg273His (c.818G>A), Homozigótica (da linha celular parental).

MANUSEAMENTO E CULTURA

Meio de cultura

EMEM (MEM Eagle), com: 2 mM L-Glutamina, com: 2,2 g/L NaHCO3, com: EBSS (número de artigo Cytion 820100a)

Atmosfera de incubação	37°C, 5%CO2, atmosfera humidificada.

Suplementos

Completar o meio com 10% de FBS e 1% de NEAA

Reagente de dissociação	Accutase

Descongelamento e cultura

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.

CONTROLO DE QUALIDADE E CRIOPRESERVAÇÃO

Esterilidade

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.
Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.

Meio de congelação	Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores optimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Condições de armazenamento

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Condições de envio

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

DOADOR

Idade do dador	44 anos
Etnia	Caucasiano

ASPECTOS LEGAIS E DE SEGURANÇA

Precauções de segurança

Quando se planeia armazenar um criovial em nitrogénio líquido para descongelação futura, é obrigatório aderir a medidas de segurança rigorosas. Luvas e vestuário de proteção adequados são essenciais, e a utilização de uma máscara facial ou óculos de segurança é necessária durante a transferência de amostras congeladas para ou do tanque de nitrogénio líquido. Isto destina-se a mitigar o risco de ferimentos provocados por potenciais explosões de crioviais após a remoção, que podem resultar na projeção de fragmentos afiados.

Aviso legal

As nossas células são fornecidas exclusivamente para fins de investigação laboratorial in vitro e não se destinam a utilização clínica ou de diagnóstico, nem devem ser administradas a seres humanos ou utilizadas para fins veterinários. Os utilizadores devem aderir a todas as diretrizes e regulamentos aplicáveis para o manuseamento e utilização destas células num ambiente de investigação.

Garantia

Na Cytion, nós garantimos a qualidade e a viabilidade de nossos produtos.
Garantimos que nossas células serão viáveis no início da cultura por 60 dias após o envio de nossas instalações.
Asseguramos que todos os materiais estão em conformidade com as especificações descritas no Certificado de Análise e/ou Folha de Produto
Para mais informações, consulte a nossa <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Declaração de Garantia

É necessário um Acordo de Transferência de Material	Yes