HT-29-MTX-E12

305801

GENERAL INFORMATION

Description

O HT-29-MTX-E12 é um subclone semelhante às células caliciformes, derivado da linhagem celular de adenocarcinoma colorretal humano HT29 por meio de seleção com metotrexato (MTX), um processo que induz a diferenciação para fenótipos secretores de muco. Entre os diversos subclones desenvolvidos a partir do HT29-MTX, o subclone E12 se destaca devido à sua formação robusta de monocamadas confluentes com junções apertadas e uma camada de muco significativamente espessa e contínua na superfície apical. Esse subclone apresenta uma proporção maior de células caliciformes maduras, conforme demonstrado pela coloração com azul de Alcian, microscopia eletrônica de transmissão (MET) e expressão dos genes de mucina MUC1 e MUC2. De fato, os níveis de mRNA de MUC1 e MUC2 foram substancialmente mais elevados no HT-29-MTX-E12 em comparação com outros subclones e com as células-mãe HT29, correlacionando-se com uma espessura de muco de aproximadamente 142 ± 51 µm — comparável ao ambiente intestinal in vivo.
Funcionalmente, demonstrou-se que o HT-29-MTX-E12 simula as propriedades de barreira da camada de muco intestinal humano, particularmente na avaliação da absorção de fármacos lipofílicos. A presença de uma espessa barreira mucosa reduz significativamente os coeficientes de permeabilidade aparente (Papp) de compostos lipofílicos, como a testosterona e vários barbitúricos, quando comparados às células Caco-2 sem muco. Por exemplo, a testosterona apresentou uma redução de 43% no Papp nas células HT-29-MTX-E12, destacando o impacto do muco na difusão do fármaco. Apesar de possuir uma barreira epitelial mais permeável do que as células Caco-2, as células HT-29-MTX-E12 mantêm relevância fisiológica por meio de sua capacidade de produzir muco, tornando-as um valioso modelo in vitro para investigar a absorção intestinal de medicamentos e a influência do muco na permeabilidade.

Tissue	Dois pontos
Disease	Adenocarcinoma do cólon

Synonyms

- HT29-MTX-E12
- MTX-E12

CLASSIFICATION

Organism	Human
Sex	Female
Growth properties	Adherent
Biosafety level	1

CHARACTERISTICS

Cell type	Epithelial

IDENTIFIERS

Citation

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

NCBI TaxID	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

EXPRESSION AND SUSCEPTIBILITY

Mutational profile

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

HANDLING AND CULTURE

Culture medium

EMEM (MEM Eagle), contendo: 2 mM de L-glutamina, contendo: 2,2 g/L de $NaHCO_3$, contendo: EBSS (número de artigo da Cytion 820100a)

Incubation atmosphere	37 °C, 5% de CO_2, atmosfera umidificada.

Supplements

Adicione ao meio 10% de FBS e 1% de NEAA

Dissociation reagent	Accutase

Thawing and culturing

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.

QUALITY CONTROL AND CRYOPRESERVATION

Sterility

A contaminação por micoplasma é descartada por meio de ensaios baseados em PCR e de métodos de detecção de micoplasma baseados em luminescência.
Para garantir que não haja contaminação por bactérias, fungos ou leveduras, as culturas celulares são submetidas a inspeções visuais diárias.

Freeze medium	Como meio de criopreservação, utilizamos meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% de DMSO para garantir viabilidade adequada após o descongelamento, ou CM-1 (número de catálogo da Cytion 800100), que inclui osmoprotetores e estabilizadores metabólicos otimizados para melhorar a recuperação e reduzir o estresse induzido pela criopreservação.

Storage conditions

Para preservação a longo prazo, coloque os frascos em nitrogênio líquido em fase de vapor a uma temperatura entre aproximadamente −150 e −196 °C. O armazenamento a −80 °C é aceitável apenas como uma etapa intermediária de curta duração antes da transferência para o nitrogênio líquido.

Shipping conditions

As linhagens celulares criopreservadas são enviadas em gelo seco, em embalagens isoladas e validadas, com refrigerante suficiente para manter a temperatura em aproximadamente −78 °C durante todo o transporte. Ao receber a remessa, inspecione o recipiente imediatamente e transfira os frascos sem demora para o local de armazenamento adequado.

DONOR

Donor age	44 anos
Ethnicity	caucasiano

LEGAL AND SAFETY

Safety precautions

Ao planejar o armazenamento de um criotubo em nitrogênio líquido para descongelamento futuro, é obrigatório seguir medidas de segurança rigorosas. É essencial o uso de luvas e roupas de proteção adequadas, além do uso obrigatório de máscara facial ou óculos de proteção durante a transferência de amostras congeladas para dentro ou para fora do tanque de nitrogênio líquido. Isso visa mitigar o risco de ferimentos decorrentes de possíveis explosões dos criotubos durante a remoção, o que pode resultar na projeção de fragmentos pontiagudos.

Disclaimer

Nossas células são fornecidas exclusivamente para fins de pesquisa laboratorial in vitro e não se destinam ao uso clínico ou diagnóstico, nem devem ser administradas a seres humanos ou utilizadas para fins veterinários. Os usuários devem cumprir todas as diretrizes e regulamentações aplicáveis ao manuseio e uso dessas células em um ambiente de pesquisa.

Warranty

Na Cytion, garantimos a qualidade e a viabilidade de nossos produtos.
Garantimos que nossas células permanecerão 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 na Ficha Técnica do Produto.
Para obter todos os detalhes, consulte nossa
Declaração de Garantia.

Material Transfer Agreement required	Yes