

Cellules HT-29 MTX E12 | 305801

Informations générales

Description

HT-29-MTX-E12 est un sous-clone semblable à une cellule à gobelet dérivé de la lignée cellulaire humaine d'adénocarcinome colorectal HT29 par sélection au méthotrexate (MTX), un processus qui induit une différenciation vers des phénotypes sécréteurs de mucus. Parmi plusieurs sous-clones développés à partir de HT29-MTX, le sous-clone E12 se distingue par la formation robuste de monocouches confluentes avec des jonctions serrées et une couche de mucus continue et très épaisse sur la surface apicale. Ce sous-clone présente une proportion plus élevée de cellules de gobelet matures, comme le montrent la coloration au bleu Alcian, la microscopie électronique à transmission (MET) et l'expression des gènes de mucine MUC1 et MUC2. En fait, les niveaux d'ARNm MUC1 et MUC2 étaient nettement plus élevés dans HT-29-MTX-E12 que dans les autres sous-clones et les cellules HT29 mères, ce qui correspond à une épaisseur de mucus d'environ $142 \pm 51 \mu\text{m}$ - comparable à l'environnement intestinal in vivo.

Sur le plan fonctionnel, il a été démontré que HT-29-MTX-E12 modélise les propriétés de barrière de la couche de mucus intestinal humain, en particulier pour l'évaluation de l'absorption de médicaments lipophiles. La présence d'une barrière de mucus épaisse réduit considérablement les coefficients de perméabilité apparente (Papp) des composés lipophiles tels que la testostérone et divers barbituriques par rapport aux cellules Caco-2 dépourvues de mucus. Par exemple, la testostérone a montré une réduction de 43 % du Papp dans les cellules HT-29-MTX-E12, soulignant l'impact du mucus sur la diffusion des médicaments. Bien que la barrière épithéliale soit plus perméable que celle des cellules Caco-2, HT-29-MTX-E12 conserve une pertinence physiologique grâce à sa capacité à produire du mucus, ce qui en fait un modèle in vitro précieux pour étudier l'absorption intestinale des médicaments et l'influence du mucus sur la perméabilité.

Organism Humain

Tissue Colon

Disease Adénocarcinome du côlon

Synonyms HT29-MTX-E12, MTX-E12

Caractéristiques

Age 44 ans

Gender Femme

Ethnicity Caucasien

Cell type Épithéliale

Growth properties Adhérent

Cellules HT-29 MTX E12 | 305801

Données réglementaires

Citation	HT-29-MTX-E12 (numéro de catalogue 305801 de Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_G356

Données biomoléculaires

Mutational profile	Mutation : APC, Simple, p.Glu853Ter (c.2557G>T), Hétérozygote (à partir de la lignée cellulaire parentale).Mutation, APC, Simple, p.Thr1556Asnfs*3 (c.4666dupA) (c.4666_4667insA), Hétérozygote (à partir de la lignée cellulaire parentale).Mutation, BRAF, Simple, p.Val600Glu (c.1799T>A), Hétérozygote (à partir de la lignée cellulaire mère).Mutation, PIK3CA, Simple, p.Pro449Thr (c.1345C>A), Hétérozygote (à partir de la lignée cellulaire mère).Mutation, SMAD4, Simple, p.Gln311Ter (c.931Mutation, TP53, Simple, p.Arg273His (c.818G>A), Homozygote (à partir de la lignée cellulaire parentale).
---------------------------	--

Manipulation

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w : 2 mM L-Glutamine, w : 2.2 g/L NaHCO ₃ , w : EBSS (numéro d'article Cytion 820100a)
Supplements	Compléter le milieu avec 10 % de FBS et 1 % de NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Freeze medium	Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (comprenant du FBS) + 10 % de DMSO pour une viabilité adéquate après décongélation, ou CM-1 (numéro de catalogue 800100 de Cytion), qui comprend des osmoprotectants et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryogénéisation.

Cellules HT-29 MTX E12 | 305801

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.
4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.
6. Centrifuger le mélange à $300 \times g$ pendant 3 minutes pour séparer les cellules et jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre doucement en suspension le culot cellulaire dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension entre deux flacons de culture T25 ; pour les cultures en suspension, transférer tout le milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance efficaces des cellules.
8. Respecter les protocoles de sous-culture établis pour une croissance et un entretien continu de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosphère humidifiée.

Flask Coating

Pour une fixation et une viabilité optimales après décongélation, nous recommandons d'utiliser des **flacons ou des plaques recouverts de collagène**.

Freezing Procedure

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78°C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Cellules HT-29 MTX E12 | 305801

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle de qualité / Profil génétique / HLA

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes basées sur la luminescence.

Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.