

**Cellule HT-29 MTX E12 | 305801****Informazioni generali****Description**

HT-29-MTX-E12 è un sottoclone simile a una cellula goblet derivato dalla linea cellulare di adenocarcinoma coloretale umano HT29 mediante selezione con metotrexato (MTX), un processo che induce la differenziazione verso fenotipi secernenti muco. Tra i vari sottoclone sviluppati da HT29-MTX, il sottoclone E12 si distingue per la robusta formazione di monostrati confluenti con giunzioni strette e uno strato di muco continuo e significativamente spesso sulla superficie apicale. Questo sottoclone presenta una maggiore proporzione di cellule goblet mature, come dimostrato dalla colorazione con Alcian Blue, dalla microscopia elettronica a trasmissione (TEM) e dall'espressione dei geni della mucina MUC1 e MUC2. Infatti, i livelli di mRNA di MUC1 e MUC2 erano sostanzialmente più elevati in HT-29-MTX-E12 rispetto ad altri sottoclone e alle cellule HT29 madri, in correlazione con uno spessore del muco di circa  $142 \pm 51 \mu\text{m}$ , paragonabile all'ambiente intestinale in vivo.

Dal punto di vista funzionale, è stato dimostrato che HT-29-MTX-E12 è in grado di modellare le proprietà di barriera dello strato di muco intestinale umano, in particolare per valutare l'assorbimento di farmaci lipofili. La presenza di una spessa barriera mucosa riduce significativamente i coefficienti di permeabilità apparente (Papp) di composti lipofili come il testosterone e vari barbiturici rispetto alle cellule Caco-2 prive di muco. Ad esempio, il testosterone ha mostrato una riduzione del 43% della Papp nelle HT-29-MTX-E12, evidenziando l'impatto del muco sulla diffusione dei farmaci. Nonostante la barriera epiteliale sia più debole rispetto alle cellule Caco-2, HT-29-MTX-E12 mantiene una rilevanza fisiologica grazie alla sua capacità di produrre muco, che la rende un valido modello in vitro per studiare l'assorbimento intestinale dei farmaci e l'influenza del muco sulla permeabilità.

**Organism** Umano**Tissue** Colon**Disease** Adenocarcinoma del colon**Synonyms** HT29-MTX-E12, MTX-E12**Caratteristiche****Age** 44 anni**Gender** Donna**Ethnicity** Caucasico**Cell type** Epiteliale**Growth properties** Aderente

**Cellule HT-29 MTX E12 | 305801****Dati normativi**

<b>Citation</b>	HT-29-MTX-E12 (catalogo Cytion numero 305801)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_G356

**Dati biomolecolari**

<b>Mutational profile</b>	Mutazione: APC, semplice, p.Glu853Ter (c.2557G>T), eterozigote (da linea cellulare madre).Mutazione, APC, semplice, p.Thr1556Asnfs*3 (c.4666dupA) (c.4666_4667insA), eterozigote (da linea cellulare madre).Mutazione, BRAF, semplice, p.Val600Glu (c.1799T>A), eterozigote (da linea cellulare madre).Mutazione, PIK3CA, semplice, p.Pro449Thr (c.1345C>A), eterozigote (da linea cellulare madre).Mutazione, SMAD4, semplice, p.Gln311Ter (c.931C>T), omozigote (da linea cellulare madre).Mutazione, TP53, semplice, p.Arg273His (c.818G>A), omozigote (da linea cellulare madre).
---------------------------	---

**Manipolazione**

<b>Culture Medium</b>	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamina, w: 2,2 g/L NaHCO <sub>3</sub> , w: EBSS (articolo Cytion numero 820100a)
<b>Supplements</b>	Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS e l'1% di NEAA
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Freeze medium</b>	Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelo, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

## Cellule HT-29 MTX E12 | 305801

### Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

### Incubation Atmosphere

37°C, 5%  $\text{CO}_2$ , atmosfera umidificata.

### Flask Coating

Per un attaccamento e una vitalità ottimali dopo lo scongelamento, si consiglia di utilizzare **fiasche o piastre rivestite di collagene**.

### Freezing Procedure

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

## Cellule HT-29 MTX E12 | 305801

### Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

### Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

## Controllo di qualità / Profilo genetico / HLA

### Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.