

Células HT-29 MTX E12 | 305801**Informações gerais****Description**

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 $142 \pm 51 \mu\text{m}$ -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.

Organism Humano**Tissue** Cólon**Disease** Adenocarcinoma do cólon**Synonyms** HT29-MTX-E12, MTX-E12**Caraterísticas****Age** 44 anos**Gender** Feminino**Ethnicity** Caucasiano**Cell type** Epitelial**Growth properties** Aderente

Células HT-29 MTX E12 | 305801**Dados regulamentares****Citation** HT-29-MTX-E12 (número de catálogo Cytion 305801)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_G356**Dados biomoleculares****Mutational profile** Mutação: APC, Simples, p.Glu853Ter (c.2557G>T), Heterozig tica (da linha celular parental).Mutação, APC, Simples, p.Thr1556Asnfs*3 (c.4666dupA) (c.4666_4667insA), Heterozig tica (da linha celular parental).Mutação, BRAF, Simples, p.Val600Glu (c.1799T>A), Heterozig tica (da linha celular parental).Mutação, PIK3CA, Simples, p.Pro449Thr (c.1345C>A), Heterozig tica (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****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), com: 2 mM L-Glutamina, com: 2,2 g/L NaHCO₃, com: EBSS (número de artigo Cytion 820100a)**Supplements** Completar o meio com 10% de FBS e 1% de NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Freeze medium** 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 otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Células HT-29 MTX E12 | 305801

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfetando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfetado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

Flask Coating

Para uma fixação e viabilidade óptimas após a descongelação, recomendamos a utilização de **frascos ou placas revestidos com colagénio**.

Freezing Procedure

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.

Células HT-29 MTX E12 | 305801

Shipping Conditions

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.

Storage Conditions

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.

Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

Sterility

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 inspeções visuais diárias.