Product sheet

Células HT-29 | 300215

Informações gerais

Description	A linha celular HT-29, derivada de um adenocarcinoma colorrectal humano de grau II, representa um modelo de investigação fundamental no estudo dos cancros do cólon humano. Derivadas de um tumor primário de uma mulher de 44 anos em 1964, as células HT22 têm sido fundamentais para o avanço da nossa compreensão dos mecanismos de adesão ou invasão das células cancerígenas. Sendo uma linha celular de adenocarcinoma humano, as células HT-29 apresentam caraterísticas que imitam de perto as das células intestinais maduras, como os enterócitos, o que sublinha a sua utilidade na exploração da dinâmica da digestão dos alimentos e da biodisponibilidade dos nutrientes. As células HT-29 são sensíveis aos quimioterápicos convencionais para o cancro colorrectal, incluindo o 5-fluorouracil e a oxaliplatina. Esta sensibilidade, associada à sua capacidade de expressar vias de diferenciação em condições específicas, como a privação de glicose ou o tratamento com indutores como o butirato, torna-as um modelo inestimável para a investigação dos mecanismos moleculares subjacentes à diferenciação celular e à progressão do cancro. Além disso, as células HT-29 têm sido utilizadas como modelo de tumor xenoenxertado, proporcionando uma plataforma para estudos in vivo que imitam o comportamento do tumor no corpo humano. Esta aplicação permite explorar o crescimento do tumor, a metástase e a eficácia dos agentes terapêuticos em situações in vivo. Em resumo, a linha celular HT-29 é uma ferramenta fundamental na investigação médica e biológica, facilitando uma compreensão mais profunda do adenocarcinoma do cólon humano, da base molecular da diferenciação das células cancerígenas e do desenvolvimento de tratamentos eficazes contra o cancro.
Organism	Humano
Tissue	Cólon
Disease	Adenocarcinoma
Synonyms	HT 29, HT29

Caraterísticas

Age	44 anos
Gender	Feminino
Ethnicity	Caucasiano
Morphology	De tipo epitelial

Células HT-29 | 300215

Growth properties	Aderente

Dados regulamentares

Citation	HT-29 (número de catálogo Cytion 300215)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0320

Dados biomoleculares

Receptors expressed	Recetor da uroquinase (u-PAR), vitamina D (expressão moderada), sem atividade detetável do ativador do plasminogénio.
Protein expression	CEA negativo, p53 positivo
Antigen expression	Tipo sanguíneo A, Rh+, HLA A1, A3, B12, B17, Cw5, CD4 -, expressão na superfície celular de galactose ceramida (um possível recetor alternativo para o VIH)
Isoenzymes	Me-2, 1, PGM3, 1-2, PGM1, 1-2, ES-D, 1, AK-1, 1, GLO-1, 1-2, G6PD, B, Produto de frequência fenotípica: 0.0230
Oncogenes	Myc+, ras+, myb+, fos+, sis+, p53+, abl -, ros -, src -
Tumorigenic	Sim, em ratinhos nus. Forma um adenocarcinoma bem diferenciado consistente com o primário do cólon (grau I), também se formam tumores em hamsters tratados com esteróides
Virus susceptibility	Vírus da imunodeficiência humana (VIH, VLA)
Products	Componente secretor da IgA, antigénio carcinoembrionário (CEA), proteína de ligação ao fator de crescimento transformador beta, mucina, O antigénio p53 é produzido em excesso
Karyotype	O número de cromossomas da linha de caule é hipertriplóide, com o componente 2S a ocorrer em 2,4%. Na maioria das metáfases encontram-se dezassete cromossomas marcadores, geralmente em cópia única por cromossoma. As designações dos marcadores são: M1p-(=t(3p-,?) com um braço curto deletado), t(7q,?), t(10q,?), i(13q), 19q+a. M6, ?t(8q,9q-), ?xp, M9, 6q+, t(13,?)a, t(13,?)b, 19q+b, M14, M15, 15p+, e xq-. O cromossoma 13 é nulisómico e os cromossomas 8 e 14 são geralmente monossómicos. Não foi detectado qualquer cromossoma Y através da análise de bandas QM.

Células HT-29 | 300215

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
Doubling time	24 horas
Subculturing	Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.
Seeding density	3×10^4 células/cm^2
Fluid renewal	2 a 3 vezes por semana
Post-Thaw Recovery	Lentamente, as células precisam de cerca de 48 horas para assentar e aderir.
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 optimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Células HT-29 | 300215

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, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.

5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado 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 x 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%$_{CO2}$, atmosfera humidificada.
Flask Coating	Nenhum
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 | 300215

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 e Análise Molecular

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 inspecções visuais diárias.
Alelos HLA	**A***: '01:01:01, '24:03:01 **B***: '35:01:01, '44:03:01 **C***: '04:01:01 **DRB1***: '04:02:01, '07:01:01 **DQA1***: '02:01:01, '03:01:01 **DQB1***: '02:02:01, '03:02:01 **DPB1***: '04:01:01 **E**: '01:01, '01:03