Product sheet

Células HT-29 MTX E12 | 305801

Información general

Description	HT-29-MTX-E12 es un subclon similar a las células caliciformes derivado de la línea celular HT29 de adenocarcinoma colorrectal humano mediante selección con metotrexato (MTX), un proceso que induce la diferenciación hacia fenotipos secretores de moco. Entre los diversos subclones desarrollados a partir de HT29-MTX, el subclon E12 se destaca por su sólida formación de monocapas confluentes con uniones estrechas y una capa de moco significativamente gruesa y continua en la superficie apical. Este subclon presenta una mayor proporción de células caliciformes maduras, como lo demuestran la tinción con azul de Alcian, la microscopía electrónica de transmisión (MET) y la expresión de los genes de mucina MUC1 y MUC2. De hecho, los niveles de ARNm de MUC1 y MUC2 fueron sustancialmente más altos en HT-29-MTX-E12 en comparación con otros subclones y las células parentales HT29, lo que se correlaciona con un espesor de moco de aproximadamente 142 ± 51 µm —comparable al entorno intestinal in vivo—. Desde el punto de vista funcional, se ha demostrado que HT-29-MTX-E12 simula las propiedades de barrera de la capa de moco intestinal humano, particularmente en la evaluación de la absorción de fármacos lipofílicos. La presencia de una barrera mucosa espesa reduce significativamente los coeficientes de permeabilidad aparente (Papp) de compuestos lipofílicos como la testosterona y diversos barbitúricos, en comparación con las células Caco-2 sin moco. Por ejemplo, la testosterona mostró una reducción del 43 % en el Papp en HT-29-MTX-E12, lo que destaca el impacto del moco en la difusión del fármaco. A pesar de tener una barrera epitelial más permeable que las células Caco-2, las HT-29-MTX-E12 mantienen su relevancia fisiológica gracias a su capacidad de producir moco, lo que las convierte en un valioso modelo in vitro para investigar la absorción intestinal de fármacos y la influencia del moco en la permeabilidad.
Organism	Humano
Tissue	Dos puntos
Disease	Adenocarcinoma de colon
Synonyms	HT29-MTX-E12, MTX-E12

Características

Age	44 años
Gender	Mujer
Ethnicity	caucásico
Cell type	Epithelial
Growth properties	Adherente

Product sheet

Células HT-29 MTX E12 | 305801

Datos normativos

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

Datos biomoleculares

Mutational profile	Mutación: APC, simple, p.Glu853Ter (c.2557G>T), heterocigótica (procedente de la línea celular parental).Mutación, APC, simple, p.Thr1556Asnfs*3 (c.4666dupA) (c.4666_4667insA), heterocigótica (de la línea celular parental).Mutación, BRAF, simple, p.Val600Glu (c.1799T>A), heterocigótica (procedente de la línea celular parental).Mutación, PIK3CA, simple, p.Pro449Thr (c.1345C>A), heterocigótica (procedente de la línea celular parental).Mutación, SMAD4, simple, p.Gln311Ter (c.931C>T), homocigótica (procedente de la línea celular parental).Mutación, TP53, simple, p.Arg273His (c.818G>A), homocigótica (procedente de la línea celular parental).

Manejo

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), con: 2 mM de L-glutamina, con: 2,2 g/L de $NaHCO_3$, con: EBSS (número de artículo de Cytion 820100a)
Supplements	Añade al medio un 10 % de FBS y un 1 % de NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Freeze medium	Como medio de criopreservación, utilizamos un medio de crecimiento completo (que incluye FBS) + 10 % de DMSO para garantizar una viabilidad adecuada tras la descongelación, o CM-1 (número de catálogo de Cytion 800100), que incluye osmoprotectores y estabilizadores metabólicos optimizados para mejorar la recuperación y reducir el estrés inducido por la criopreservación.

Células HT-29 MTX E12 | 305801

Thawing and Culturing Cells

1. Verifique que el vial se mantenga profundamente congelado al momento de la entrega, ya que las células se envían en hielo seco para mantener temperaturas óptimas durante el transporte.
2. Al recibirlo, almacene el criovial inmediatamente a temperaturas inferiores a -150 °C para garantizar la preservación de la integridad celular, o bien continúe con el paso 3 si se requiere un cultivo inmediato.
3. Para el cultivo inmediato, descongele rápidamente el vial sumergiéndolo en un baño de agua a 37 °C con agua limpia y un agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40 a 60 segundos hasta que quede un pequeño trozo de hielo.
4. Realice todos los pasos posteriores en condiciones estériles bajo una cabina de flujo laminar, desinfectando el criovial con etanol al 70 % antes de abrirlo.
5. Abra con cuidado el vial desinfectado y transfiera la suspensión celular a un tubo de centrífuga de 15 ml que contenga 8 ml de medio de cultivo a temperatura ambiente, mezclando suavemente.
6. Centrifugue la mezcla a 300 x g durante 3 minutos para separar las células y deseche con cuidado el sobrenadante que contenga medio de congelación residual.
7. Resuspende suavemente el sedimento celular en 10 ml de medio de cultivo fresco. Para las células adherentes, divide la suspensión entre dos frascos de cultivo T25; para los cultivos en suspensión, transfiere todo el medio a un solo frasco T25 para promover una interacción y un crecimiento celular efectivos.
8. Siga los protocolos de subcultivo establecidos para el crecimiento y mantenimiento continuos de la línea celular, asegurando resultados experimentales confiables.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % de CO_2, atmósfera humidificada.

Shipping Conditions

Las líneas celulares criopreservadas se envían en hielo seco, en un embalaje aislante validado que contiene suficiente refrigerante para mantener una temperatura de aproximadamente −78 °C durante todo el transporte. Al recibir el envío, revise el contenedor de inmediato y traslade los viales sin demora al lugar de almacenamiento adecuado.

Storage Conditions

Para la conservación a largo plazo, coloque los viales en nitrógeno líquido en fase de vapor a una temperatura de entre −150 y −196 °C, aproximadamente. El almacenamiento a −80 °C solo es aceptable como un paso intermedio breve antes de transferirlos al nitrógeno líquido.

Células HT-29 MTX E12 | 305801

Control de calidad y análisis molecular

Sterility	Se descarta la contaminación por micoplasmas mediante ensayos basados en PCR y métodos de detección de micoplasmas basados en luminiscencia. Para garantizar que no haya contaminación bacteriana, fúngica o por levaduras, los cultivos celulares se someten a inspecciones visuales diarias.