**Product sheet**

# Células HT-29 MTX E12 | 305801

## Informações gerais

| | |
|---|---|
| **Description** | O HT-29-MTX-E12 é um subclone semelhante às células caliciformes, derivado da linhagem celular de adenocarcinoma colorretal humano HT29 por meio de seleção com metotrexato (MTX), um processo que induz a diferenciação para fenótipos secretores de muco. Entre os diversos subclones desenvolvidos a partir do HT29-MTX, o subclone E12 se destaca devido à sua formação robusta de monocamadas confluentes com junções apertadas e uma camada de muco significativamente espessa e contínua na superfície apical. Esse subclone apresenta uma proporção maior de células caliciformes maduras, conforme demonstrado pela coloração com azul de Alcian, microscopia eletrônica de transmissão (MET) e expressão dos genes de mucina MUC1 e MUC2. De fato, os níveis de mRNA de MUC1 e MUC2 foram substancialmente mais elevados no HT-29-MTX-E12 em comparação com outros subclones e com as células-mãe HT29, correlacionando-se com uma espessura de muco de aproximadamente 142 ± 51 µm — comparável ao ambiente intestinal in vivo.<br><br>Funcionalmente, demonstrou-se que o HT-29-MTX-E12 simula as propriedades de barreira da camada de muco intestinal humano, particularmente na avaliação da absorção de fármacos lipofílicos. A presença de uma espessa barreira mucosa reduz significativamente os coeficientes de permeabilidade aparente (Papp) de compostos lipofílicos, como a testosterona e vários barbitúricos, quando comparados às células Caco-2 sem muco. Por exemplo, a testosterona apresentou uma redução de 43% no Papp nas células HT-29-MTX-E12, destacando o impacto do muco na difusão do fármaco. Apesar de possuir uma barreira epitelial mais permeável do que as células Caco-2, as células HT-29-MTX-E12 mantêm relevância fisiológica por meio de sua capacidade de produzir muco, tornando-as um valioso modelo in vitro para investigar a absorção intestinal de medicamentos e a influência do muco na permeabilidade. |
| **Organism** | Humano |
| **Tissue** | Dois pontos |
| **Disease** | Adenocarcinoma do cólon |
| **Synonyms** | HT29-MTX-E12, MTX-E12 |

## Características

| | |
|---|---|
| **Age** | 44 anos |
| **Gender** | Mulher |
| **Ethnicity** | caucasiano |
| **Cell type** | Epithelial |
| **Growth properties** | Aderente |

**Product sheet**

# Células HT-29 MTX E12 | 305801

## Dados regulatórios

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

## Dados biomoleculares

| | |
|---|---|
| **Mutational profile** | Mutação: APC, simples, p.Glu853Ter (c.2557G>T), heterozigótica (proveniente da linhagem celular parental).Mutação, APC, simples, p.Thr1556Asnfs*3 (c.4666dupA) (c.4666_4667insA), heterozigótica (proveniente da linhagem celular parental).Mutação, BRAF, simples, p.Val600Glu (c.1799T>A), heterozigótica (proveniente da linhagem celular parental).Mutação, PIK3CA, simples, p.Pro449Thr (c.1345C>A), heterozigótica (da linhagem celular parental).Mutação, SMAD4, simples, p.Gln311Ter (c.931C>T), homozigótica (proveniente da linhagem celular parental).Mutação, TP53, simples, p.Arg273His (c.818G>A), homozigótica (da linhagem celular parental). |

## Manuseio

| | |
|---|---|
| **Culture Medium** | EMEM (MEM Eagle), contendo: 2 mM de L-glutamina, contendo: 2,2 g/L de $NaHCO_3$, contendo: EBSS (número de artigo da Cytion 820100a) |
| **Supplements** | Adicione ao meio 10% de FBS e 1% de NEAA |
| **Dissociation Reagent** | Accutase |
| **Freeze medium** | Como meio de criopreservação, utilizamos meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% de DMSO para garantir viabilidade adequada após o descongelamento, ou CM-1 (número de catálogo da Cytion 800100), que inclui osmoprotetores e estabilizadores metabólicos otimizados para melhorar a recuperação e reduzir o estresse induzido pela criopreservação. |

# Células HT-29 MTX E12 | 305801

| | |
|---|---|
| **Thawing and Culturing Cells** | 1. Verifique se o frasco permanece profundamente congelado no momento da entrega, pois as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.<br>2. Após o recebimento, armazene o criovial imediatamente a temperaturas abaixo de -150 °C para garantir a preservação da integridade celular ou prossiga para a etapa 3, caso seja necessária a cultura imediata.<br>3. Para cultura imediata, descongele rapidamente o frasco imergindo-o em um banho-maria a 37 °C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente por 40 a 60 segundos até que reste apenas um pequeno pedaço de gelo.<br>4. Realize todas as etapas subsequentes em condições estéreis em uma cabine de fluxo, desinfetando o criovial com etanol a 70% antes de abri-lo.<br>5. Abra cuidadosamente o frasco desinfetado e transfira a suspensão celular para um tubo de centrífuga de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando delicadamente.<br>6. Centrifugue a mistura a 300 x g por 3 minutos para separar as células e descarte cuidadosamente o sobrenadante contendo o meio de congelamento residual.<br>7. Ressuspender suavemente o sedimento celular em 10 ml de meio de cultura fresco. Para células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; para culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 a fim de promover a interação e o crescimento celular eficazes.<br>8. Siga os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento contínuo e a manutenção da linhagem celular, garantindo resultados experimentais confiáveis. |
| **Incubation Atmosphere** | 37 °C, 5% de $CO_2$, atmosfera umidificada. |
| **Shipping Conditions** | As linhagens celulares criopreservadas são enviadas em gelo seco, em embalagens isoladas e validadas, com refrigerante suficiente para manter a temperatura em aproximadamente −78 °C durante todo o transporte. Ao receber a remessa, inspecione o recipiente imediatamente e transfira os frascos sem demora para o local de armazenamento adequado. |
| **Storage Conditions** | Para preservação a longo prazo, coloque os frascos em nitrogênio líquido em fase de vapor a uma temperatura entre aproximadamente −150 e −196 °C. O armazenamento a −80 °C é aceitável apenas como uma etapa intermediária de curta duração antes da transferência para o nitrogênio líquido. |

## Controle de Qualidade e Análise Molecular

## Células HT-29 MTX E12 | 305801

**Sterility**

A contaminação por micoplasma é descartada por meio de ensaios baseados em PCR e de métodos de detecção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não haja contaminação por bactérias, fungos ou leveduras, as culturas celulares são submetidas a inspeções visuais diárias.