

Клетки T84 | 300354

Обща информация

Description	В тази линия се наблюдават плътни връзки и дезмосоми между съседните клетки. Клетките трябва да се поддържат с висока плътност (поне 1/4 срастване).
Organism	Човек
Tissue	Дебело черво
Disease	Карцином
Metastatic site	Бял дроб
Applications	Изследвания в областта на колоректалния рак; биология на чревния епител; изследвания на плътните съединения и бариерната функция; физиология на транспорта в дебелото черво; изследвания на регулатора на трансмембранната проводимост при кистозна фиброза (CFTR); абсорбция и метаболизъм на лекарства; модели с ксенографти
Synonyms	T-84, T 84

Характеристики

Age	72 години
Gender	Мъжки
Ethnicity	Етническа принадлежност – неуточнена
Morphology	Подобни на епител
Cell type	Епителни клетки
Growth properties	Придържащи се

Регулаторни данни

Citation	T84 (каталожен номер 300354 на Cytion)
Biosafety level	1

Клетки T84 | 300354

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0555

GMO Status Без генетична модификация; клетъчна линия на колоректален карцином от див тип (хетерозиготната мутация KRAS G13D представлява ендегенна соматична промяна, а не модификация чрез генно инженерство)

Биомолекуларни данни

Receptors expressed Пептиден хормон, невротрансмитер

Antigen expression Кератин + (имунопероксидазно оцветяване)

Isoenzymes G6PD, B, PGM1, 1, PGM3, 1, ES-D, 1, Me-2, 1-2, AK-1, 1, GLO-1, 1-2

Tumorigenic Да, при голи мишки

Products Карциноембрионален антиген (CEA), 600 ng/ml на 10 експ6 клетки за 10 дни, кератин

Mutational profile Клетките T84 носят хетерозиготна мутация на Kras в кодон 13: GGC(Wt Gly) >GAC(Asp)

Karyotype Модалният брой хромозоми в стъблото е 56, като те се срещат в 28%, а полиплоидността е 12,4%. Осемнадесет маркера са общи за повечето изследвани метафази. Липсват нормален x и хромозома 13, хромозоми 2, 4 и 22 са единично копирани, а хромозома 12 е 4-копирана. не е открита Y хромозома чрез наблюдение на Q лента. DM се среща в почти 50 % от клетките.

Работа с

Culture Medium Ham's F12, w: 1,0 mM стабилен глутамин, w: 1,0 mM натриев пируват, w: 1,1 g/L NaHCO3 (номер на статията в Cytion 820600a)

Supplements Допълнете средата с 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time приблизително от 48 до 72 часа

Клетки T84 | 300354

Subculturing	Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.
Split ratio	от 1 до 3
Seeding density	1 до 2×10^4 клетки/cm ² (поддържайте конfluентност от най-малко 1/4, за да се запази фенотипът на плътните съединения)
Fluid renewal	2 пъти седмично
Post-Thaw Recovery	След размразяване разпределете клетките в култура с плътност 5×10^4 клетки/cm ² и изчакайте поне 24-48 часа, докато се прикрепят. Поддържайте клетките при висока плътност ($\geq 25\%$ конfluентност), за да се запази образуването на плътни съединения.
Freeze medium	Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки T84 | 300354

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикуробен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

Няма

**Freezing
Procedure**

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки T84 | 300354

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.

HLA алели

A*: '02:01:01, '24:02:01
B*: '18:01:01, '35:01:01
C*: '04:01:01, '07:01:01
DRB1*: '01:01:01, '09:01:02
DQA1*: '01:01:01, '03:02:01
DQB1*: '03:03:02, '05:01:01
DPB1*: '02:01:02, '04:01:01
E: '01:03:01, '01:03:02