

Buňky T84 | 300354

Obecné informace

Description	Tato linie vykazuje těsné spoje a desmosomy mezi sousedními buňkami. Buňky by měly být udržovány ve vysoké hustotě (alespoň 1/4 konfluence).
Organism	Člověk
Tissue	Střeva
Disease	Karcinom
Metastatic site	Plíce
Applications	Výzkum kolorektálního karcinomu; biologie střevního epitelu; studie těsných spojů a bariérové funkce; fyziologie transportu v tlustém střevě; výzkum regulátoru transmembránové vodivosti u cystické fibrózy (CFTR); absorpce a metabolismus léčiv; modely xenotransplantátů
Synonyms	T-84, T 84

Charakteristika

Age	72 let
Gender	Muži
Ethnicity	Etnická příslušnost neuvedena
Morphology	Epitelu podobné
Cell type	Epitelové buňky
Growth properties	Adherentní

Regulační údaje

Citation	T84 (katalogové číslo Cytion 300354)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606

Buňky T84 | 300354**CellosaurusAccession** CVCL_0555**GMO Status** Bez genetické modifikace; buněčná linie karcinomu tlustého střeva divokého typu (heterozygotní mutace KRAS G13D je endogenní somatická změna, nikoli modifikace vzniklá genetickým inženýrstvím)**Biomolekulární data****Receptors expressed** Peptidový hormon, neurotransmitter**Antigen expression** Keratin + (barvení imunoperoxidázou)**Isoenzymes** G6PD, B, PGM1, 1, PGM3, 1, ES-D, 1, Me-2, 1-2, AK-1, 1, GLO-1, 1-2**Tumorigenic** Ano, u nahých myší**Products** Karcinoembryonální antigen (CEA), 600 ng/ml na 10 exp6 buněk za 10 dní, keratin**Mutational profile** Buňky T84 nesou heterozygotní mutaci Krasu v kodonu 13: GGC(Wt Gly) >GAC(Asp)**Karyotype** Modální počet chromozomů v kmenové linii je 56, vyskytuje se ve 28 % a polyploidie ve 12,4 %. Osmnáct markerů je společných pro většinu zkoumaných metafází. Normální chromozom x a chromozom 13 chyběly, chromozomy 2, 4 a 22 byly jednokopírové a chromozom 12 byl čtyřkopírový. pozorováním Q-pásu nebyl zjištěn žádný chromozom Y. V případě chromozomu Y byl chromozom Y zjištěn pouze v jednom případě. DM se vyskytoval téměř u 50 % buněk.**Zpracování****Culture Medium** Ham's F12, w: 1,0 mM stabilní glutamin, w: 1,0 mM pyruvát sodný, w: 1,1 g/l NaHCO₃ (číslo výrobku Cytion 820600a)**Supplements** Doplněte médium o 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** přibližně 48 až 72 hodin

Buňky T84 | 300354

Subculturing Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.

Split ratio 1 až 3

Seeding density 1 až 2×10^4 buněk/cm² (udržujte alespoň 1/4 konfluence, aby se zachoval fenotyp těsných spojů)

Fluid renewal 2krát týdně

Post-Thaw Recovery Po rozmrazení naneste buňky na kultivační misku v hustotě 5×10^4 buněk/cm² a nechte je přilnout po dobu nejméně 24–48 hodin. Udržujte buňky ve vysoké hustotě (≥ 25 % konfluence), aby se zachovala tvorba těsných spojů.

Freeze medium Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Buňky T84 | 300354

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmražená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žádný

**Freezing
Procedure**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

**Shipping
Conditions**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Buňky T84 | 300354**Storage
Conditions**

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA**Sterility**

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.

Profil STR

CSF1PO: 10
D13S317: 9
D16S539: 10,11
D5S818: 12
D7S820: 8,10
TH01: 6,9
TPOX: 8
vWA: 17,18
D3S1358: 19
D21S11: 31
D18S51: 17
Penta E: 14
Penta D: 9
D8S1179: 15
FGA: 24

Alely HLA

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