

T84-Zellen | 300354

Allgemeine Informationen

Description	Diese Linie weist enge Verbindungsstellen und Desmosomen zwischen benachbarten Zellen auf. Die Zellen sollten in hoher Dichte gehalten werden (mindestens 1/4 Konfluenz).
Organism	Menschen
Tissue	Doppelpunkt
Disease	Karzinom
Metastatic site	Lunge
Applications	Forschung zu Darmkrebs; Biologie des Darmepithels; Untersuchungen zu Tight Junctions und Barrierefunktionen; Transportphysiologie des Dickdarms; Forschung zum zystischen Fibrose-Transmembran-Leitfähigkeitsregulator (CFTR); Arzneimittelresorption und -metabolismus; Xenotransplantatmodelle
Synonyms	T-84, T 84

Merkmale

Age	72 Jahre
Gender	Männlich
Ethnicity	Ethnische Zugehörigkeit nicht angegeben
Morphology	Epithelähnlich
Cell type	Epithelzellen
Growth properties	Adhärent

Regulatorische Daten

Citation	T84 (Cytion Katalognummer 300354)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606

T84-Zellen | 300354**CellosaurusAccession** CVCL_0555**GMO Status** Keine genetische Veränderung; Wildtyp-Kolonkarzinom-Zelllinie (die heterozygote KRAS-G13D-Mutation ist eine endogene somatische Veränderung, keine gentechnische Veränderung)**Biomolekulare Daten****Receptors expressed** Peptidhormon, Neurotransmitter**Antigen expression** Keratin + (Immunoperoxidase-Färbung)**Isoenzymes** G6PD, B, PGM1, 1, PGM3, 1, ES-D, 1, Me-2, 1-2, AK-1, 1, GLO-1, 1-2**Tumorigenic** Ja, in Nacktmäusen**Products** Carcinoembryonales Antigen (CEA), 600 ng/ml pro 10 exp6 Zellen pro 10 Tage, Keratin**Mutational profile** T84-Zellen tragen eine heterozygote Kras-Mutation in Codon13: GGC(Wt Gly) >GAC(Asp)**Karyotype** Die Modalchromosomenzahl der Stammlinie beträgt 56 und kommt zu 28 % vor, wobei die Polyploidie bei 12,4 % liegt. Achtzehn Marker sind den meisten untersuchten Metaphasen gemeinsam. Normales x und Chromosom 13 fehlten, die Chromosomen 2, 4 und 22 waren einfach kopiert, und Chromosom 12 war vierfach kopiert, und bei der Q-Band-Beobachtung wurde kein Y-Chromosom entdeckt. DM trat bei fast 50 % der Zellen auf.**Handhabung****Culture Medium** Ham's F12, w: 1,0 mM stabiles Glutamin, w: 1,0 mM Natriumpyruvat, w: 1,1 g/L NaHCO₃ (Cytion-Artikelnummer 820600a)**Supplements** Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** ca. 48 bis 72 Stunden

T84-Zellen | 300354

Subculturing Entfernen Sie das alte Medium von den adhärenen Zellen und waschen Sie sie mit PBS, das kein Kalzium und Magnesium enthält. Für T25-Kolben 3-5 ml PBS und für T75-Kolben 5-10 ml verwenden. Anschließend werden die Zellen vollständig mit Accutase bedeckt, wobei 1-2 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben verwendet werden. Lassen Sie die Zellen 8-10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, um sie abzulösen. Nach der Inkubation mischen Sie die Zellen vorsichtig mit 10 ml Medium, um sie zu resuspendieren, und zentrifugieren sie dann 3 Minuten lang bei 300xg. Den Überstand verwerfen, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Kolben überführen, die bereits frisches Medium enthalten.

Split ratio 1 bis 3

Seeding density 1 bis 2×10^4 Zellen/cm² (mindestens 1/4 Konfluenz beibehalten, um den Phänotyp der Tight Junctions zu erhalten)

Fluid renewal 2 Mal pro Woche

Post-Thaw Recovery Nach dem Auftauen die Zellen mit einer Dichte von 5×10^4 Zellen/cm² ausplattieren und mindestens 24–48 Stunden für die Adhäsion einplanen. Die Zellen bei hoher Dichte (≥ 25 % Konfluenz) halten, um die Bildung von Tight Junctions zu gewährleisten.

Freeze medium Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

T84-Zellen | 300354

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter -150 °C, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei 300 x g, um die Zellen abzutrennen, und werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhärenenten Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5%_{CO2}, befeuchtete Atmosphäre.

Flask Coating

Keine

**Freezing
Procedure**

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

T84-Zellen | 300354

Shipping Conditions

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Storage Conditions

Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Qualitätskontrolle / Genetisches Profil / HLA

Sterility

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.

Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.

STR-Profil

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

HLA-Allele

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