

Κύτταρα T84 | 300354

Γενικές πληροφορίες

Description	Η γραμμή αυτή παρουσιάζει στενές συνδέσεις και δεσμοσώματα μεταξύ των παρακείμενων κυττάρων. Τα κύτταρα πρέπει να διατηρούνται σε υψηλή πυκνότητα (τουλάχιστον 1/4 της συρροής).
Organism	Ανθρώπινο
Tissue	Κόλον
Disease	Καρκίνωμα
Metastatic site	Πνεύμονας
Applications	Έρευνα για τον καρκίνο του παχέος εντέρου· βιολογία του εντερικού επιθηλίου· μελέτες σχετικά με τις στενές συνδέσεις και τη λειτουργία του φραγμού· φυσιολογία της μεταφοράς στο κόλον· έρευνα σχετικά με τον ρυθμιστή διαμεμβρανικής αγωγιμότητας της κυστικής ίνωσης (CFTR)· απορρόφηση και μεταβολισμός φαρμάκων· μοντέλα ξενομοσχεύματος
Synonyms	T-84, T 84

Χαρακτηριστικά

Age	72 χρόνια
Gender	Άντρας
Ethnicity	Εθνικότητα μη προσδιορισμένη
Morphology	Επιθηλιοειδής
Cell type	Επιθηλιακά κύτταρα
Growth properties	Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation	T84 (αριθμός καταλόγου Cytion 300354)
Biosafety level	1

Κύτταρα T84 | 300354

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0555

GMO Status Χωρίς γενετική τροποποίηση· κυτταρική σειρά καρκινώματος του παχέος εντέρου φυσικού τύπου (η ετερόζυγη μετάλλαξη KRAS G13D αποτελεί ενδογενή σωματική μεταβολή και όχι γενετική τροποποίηση)

Βιομοριακά δεδομένα

Receptors expressed Πεπτιδική ορμόνη, νευροδιαβιβαστής

Antigen expression Κερατίνη + (χρώση ανοσοϋπεροξειδάσης)

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

Tumorigenic Ναι, σε γυμνά ποντίκια

Products Καρκινοεμβρυϊκό αντιγόνο (CEA), 600 ng/ml ανά 10 expr6 κύτταρα ανά 10 ημέρες, κερατίνη

Mutational profile Τα κύτταρα T84 φέρουν ετερόζυγη μετάλλαξη Kras στο κωδικόνιο13: GGC(Wt Gly) >GAC(Asp)

Karyotype Ο μέσος αριθμός χρωμοσωμάτων της βλαστικής γραμμής είναι 56, ο οποίος εμφανίζεται σε ποσοστό 28% με πολυπλοειδία σε ποσοστό 12,4%. Δεκαοκτώ δείκτες είναι κοινοί στις περισσότερες μεταφάσεις που εξετάστηκαν. Το φυσιολογικό x και το χρωμόσωμα 13 απουσίαζαν, τα χρωμοσώματα 2, 4 και 22 ήταν μονοαντιγραφικά και το χρωμόσωμα 12 ήταν 4-αντιγραφικό, ενώ κανένα χρωμόσωμα Y δεν ανιχνεύθηκε με την παρατήρηση της ζώνης Q. Το DM εμφανίστηκε σχεδόν στο 50% των κυττάρων.

Χειρισμός

Culture Medium Ham's F12, w: 1,0 mM σταθερή γλουταμίνη, w: 1,0 mM πυρροβικό νάτριο, w: 1,1 g/L NaHCO₃ (αριθμός άρθρου Cytion 820600a)

Supplements Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time περίπου 48 έως 72 ώρες

Κύτταρα T84 | 300354

Subculturing Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.

Split ratio 1 έως 3

Seeding density 1 έως 2×10^4 κύτταρα/cm² (διατηρήστε τουλάχιστον το 1/4 της πυκνότητας, ώστε να διατηρηθεί ο φαινότυπος των στενών συνδέσεων)

Fluid renewal 2 φορές την εβδομάδα

Post-Thaw Recovery Μετά την απόψυξη, μεταφέρετε τα κύτταρα σε τρυβλία με πυκνότητα 5×10^4 κύτταρα/cm² και αφήστε τα να προσκολληθούν για τουλάχιστον 24-48 ώρες. Διατηρήστε τα κύτταρα σε υψηλή πυκνότητα ($\geq 25\%$ συγκέντρωση) για να εξασφαλίσετε τον σχηματισμό στενών συνδέσεων.

Freeze medium Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Κύτταρα T84 | 300354**Thawing and
Culturing Cells**

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυσταλλικό αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυσταλλικό με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Κανένα

**Freezing
Procedure**

Οι κρυσταλλοποιημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Κύτταρα T84 | 300354**Shipping
Conditions**

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

**Storage
Conditions**

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA**Sterility**

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.

**HLA
αλληλόμορφα**

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