

**Células T84 | 300354****Información general**

**Description** Esta línea presenta uniones estrechas y desmosomas entre las células adyacentes. Las células deben mantenerse a alta densidad (al menos 1/4 de confluencia).

**Organism** Humano

**Tissue** Colon

**Disease** Carcinoma

**Metastatic site** Pulmón

**Applications** Investigación sobre el cáncer colorrectal; biología del epitelio intestinal; estudios sobre las uniones estrechas y la función de barrera; fisiología del transporte colónico; investigación sobre el regulador de la conductancia transmembrana de la fibrosis quística (CFTR); absorción y metabolismo de fármacos; modelos de xenoinjertos

**Synonyms** T-84, T 84

**Características**

**Age** 72 años

**Gender** Hombre

**Ethnicity** Origen étnico no especificado

**Morphology** De tipo epitelial

**Cell type** Células epiteliales

**Growth properties** Adherente

**Datos reglamentarios**

**Citation** T84 (número de catálogo Cytion 300354)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

## Células T84 | 300354

**CellosaurusAccession** CVCL\_0555

**GMO Status** Sin modificación genética; línea celular de carcinoma de colon de tipo salvaje (la mutación heterocigótica KRAS G13D es un cambio somático endógeno, no una modificación derivada de la ingeniería genética)

## Datos biomoleculares

**Receptors expressed** Hormona peptídica, neurotransmisor

**Antigen expression** Queratina + (tinción de inmunoperoxidasa)

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

**Tumorigenic** Sí, en ratones desnudos

**Products** Antígeno carcinoembrionario (CEA), 600 ng/ml por 10 células exp6 por 10 días, queratina

**Mutational profile** Las células T84 presentan una mutación heterocigota de Kras en el codón13: GGC(Wt Gly) >GAC(Asp)

**Karyotype** El número modal de cromosomas de la línea madre es de 56, con un 28% de poliploidía y un 12,4% de poliploidía. Dieciocho marcadores son comunes a la mayoría de las metafases examinadas. El cromosoma X normal y el cromosoma 13 estaban ausentes, los cromosomas 2, 4 y 22 tenían una sola copia y el cromosoma 12 tenía 4 copias. Casi el 50% de las células presentaban DM.

## Manejo de

**Culture Medium** Ham's F12, w: 1,0 mM Glutamina estable, w: 1,0 mM Piruvato sódico, w: 1,1 g/L NaHCO3 (Cytion número de artículo 820600a)

**Supplements** Complementar el medio con un 10% de FBS

**Dissociation Reagent** Accutase

**Doubling time** entre 48 y 72 horas, aproximadamente

**Células T84 | 300354**

<b>Subculturing</b>	Retire el medio antiguo de las células adheridas y lávelas con PBS que carezca de calcio y magnesio. Para matraces T25, utilice 3-5 ml de PBS, y para matraces T75, utilice 5-10 ml. A continuación, cubra completamente las células con Accutase, utilizando 1-2 ml para matraces T25 y 2,5 ml para matraces T75. Deje incubar las células a temperatura ambiente durante 8-10 minutos para desprenderlas. Tras la incubación, mezclar suavemente las células con 10 ml de medio para resuspenderlas y, a continuación, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Desechar el sobrenadante, resuspender las células en medio fresco y transferirlas a nuevos matraces que ya contengan medio fresco.
<b>Split ratio</b>	Del 1 al 3
<b>Seeding density</b>	De 1 a $2 \times 10^4$ células/cm <sup>2</sup> (mantener una confluencia mínima de 1/4 para conservar el fenotipo de las uniones estrechas)
<b>Fluid renewal</b>	2 veces por semana
<b>Post-Thaw Recovery</b>	Tras la descongelación, siembre las células a una densidad de $5 \times 10^4$ células/cm <sup>2</sup> y deje que se adhieran durante al menos 24-48 horas. Mantenga las células a alta densidad ( $\geq 25$ % de confluencia) para preservar la formación de uniones estrechas.
<b>Freeze medium</b>	Como medio de criopreservación, utilizamos el medio de crecimiento completo (incluido FBS) + 10% DMSO para una viabilidad adecuada tras la descongelación, o CM-1 (número de catálogo 800100 de Cytion), que incluye osmoprotectores optimizados y estabilizadores metabólicos para mejorar la recuperación y reducir el estrés crioinducido.

## Células T84 | 300354

### Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que el vial permanece profundamente congelado en el momento de la entrega, ya que las células se envían en hielo seco para mantener temperaturas óptimas durante el transporte.
2. Tras la recepción, almacene el criovial inmediatamente a temperaturas inferiores a  $-150^{\circ}\text{C}$  para garantizar la conservación de la integridad celular, o proceda al paso 3 si se requiere el cultivo inmediato.
3. Para el cultivo inmediato, descongele rápidamente el vial sumergiéndolo en un baño de agua a  $37^{\circ}\text{C}$  con agua limpia y un agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos hasta que quede un pequeño grumo de hielo.
4. Realice todos los pasos siguientes en condiciones estériles en una campana de flujo, desinfectando el criovial con etanol al 70% antes de abrirlo.
5. Abrir con cuidado el vial desinfectado y transferir la suspensión celular a un tubo de centrifuga de 15 ml que contenga 8 ml de medio de cultivo a temperatura ambiente, mezclando suavemente.
6. Centrifugar la mezcla a  $300 \times g$  durante 3 minutos para separar las células y desechar cuidadosamente el sobrenadante que contiene medio de congelación residual.
7. Resuspender suavemente el sedimento celular en 10 ml de medio de cultivo fresco. Para las células adherentes, dividir la suspensión entre dos matraces de cultivo T25; para los cultivos en suspensión, transferir todo el medio a un matraz T25 para promover la interacción y el crecimiento celular efectivos.
8. Siga los protocolos de subcultivo establecidos para el crecimiento y mantenimiento continuos de la línea celular, garantizando resultados experimentales fiables.

### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , atmósfera humidificada.

### Flask Coating

Ninguno

### Freezing Procedure

Las líneas celulares crioconservadas se envían en hielo seco en envases validados y aislados con suficiente refrigerante para mantener aproximadamente  $-78^{\circ}\text{C}$  durante el tránsito. A la recepción, inspeccione el envase inmediatamente y transfiera los viales sin demora al almacenamiento adecuado.

### Shipping Conditions

Las líneas celulares crioconservadas se envían en hielo seco en envases validados y aislados con suficiente refrigerante para mantener aproximadamente  $-78^{\circ}\text{C}$  durante el tránsito. A la recepción, inspeccione el envase inmediatamente y transfiera los viales sin demora al almacenamiento adecuado.

## Células T84 | 300354

### Storage Conditions

Para la conservación a largo plazo, coloque los viales en nitrógeno líquido en fase vapor a una temperatura aproximada de -150 a -196 °C. El almacenamiento a -80 °C sólo es aceptable como breve paso intermedio antes de la transferencia al nitrógeno líquido.

## Control de calidad / Perfil genético / HLA

### Sterility

La contaminación por micoplasma se excluye utilizando tanto ensayos basados en la PCR como métodos de detección de micoplasma basados en la luminiscencia.

Para garantizar la ausencia de contaminación bacteriana, fúngica o por levaduras, los cultivos celulares se someten a inspecciones visuales diarias.

### Perfil de 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

### Alelos 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