

## T84 rakud | 300354

## Üldine teave

<b>Description</b>	Sellel joonel on tihedad ühendused ja desmosoomid kõrvuti asetsevate rakkude vahel. Rakke tuleb hoida suure tihedusega (vähemalt 1/4 konfluentsus).
<b>Organism</b>	Inimene
<b>Tissue</b>	Colon
<b>Disease</b>	Kartsinoom
<b>Metastatic site</b>	Kopsud
<b>Applications</b>	Kolorektaalvähi uurimine; sooleepiteeli bioloogia; tihedate liideste ja barjäärfunktsiooni uuringud; jämesoole transportfüsioloogia; tsüstilise fibroosi transmembraanse juhtivuse regulaatori (CFTR) uurimine; ravimite imendumine ja ainevahetus; ksenotransplantaadi mudelid
<b>Synonyms</b>	T-84, T 84

## Omadused

<b>Age</b>	72 aastat
<b>Gender</b>	Mees
<b>Ethnicity</b>	Etniline kuuluvus pole täpsustatud
<b>Morphology</b>	Epiteelilaadsed
<b>Cell type</b>	Epiteelirakud
<b>Growth properties</b>	Kinnipeetav

## Regulatiivsed andmed

<b>Citation</b>	T84 (Cytioni katalooginumber 300354)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606

## T84 rakud | 300354

**CellosaurusAccession** CVCL\_0555**GMO Status** Geneetilisi muudatusi pole tehtud; loodusliku tüüpi käärsöolevähirakkude liin (KRAS G13D heterosügootne mutatsioon on endogeenne somaatiline muutus, mitte geneetilise inseneri abil tehtud muudatus)**Biomolekulaarsed andmed****Receptors expressed** Peptiidhormoon, neurotransmitter**Antigen expression** Keratiin + (immunoperoksüdaasi värvimine)**Isoenzymes** G6PD, B, PGM1, 1, PGM3, 1, ES-D, 1, Me-2, 1-2, AK-1, 1, GLO-1, 1-2**Tumorigenic** Jah, alasti hiirtel**Products** Kartsinoembüooniline antigeen (CEA), 600 ng/ml 10 eksp6 raku kohta 10 päeva jooksul, keratiin**Mutational profile** T84 rakud kannavad heterosügootset Kras-mutatsiooni koodonis13: GGC(Wt Gly) >GAC(Asp)**Karyotype** Tüveline modaalne kromosoomide arv on 56, mis esineb 28% ulatuses ja polüploidus 12,4% ulatuses. Enamikul uuritud metafaasidest on ühised 18 markerit. Normaalne x ja kromosoom 13 puudusid, kromosoomid 2, 4 ja 22 olid ühekordselt kopeeritud ja kromosoom 12 oli neljakordne. Q-ribade vaatlusega ei tuvastatud ühtegi Y-kromosoomi. DM esines peaaegu 50%-l rakkudest.**Töötlemine****Culture Medium** Ham's F12, w: 1,0 mM stabiilne glutamiin, w: 1,0 mM naatriumpüruvaat, w: 1,1 g/L NaHCO3 (Cytioni artikli number 820600a)**Supplements** Täiendada söötme 10% FBS-ga**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** umbes 48–72 tundi

## T84 rakud | 300354

**Subculturing** Eemaldage kleepunud rakkudelt vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.

**Split ratio** 1-3

**Seeding density**  $1-2 \times 10^4$  rakku/cm<sup>2</sup> (säilitage vähemalt 1/4 konfluentsust, et säilitada tihedate liideste fenotüüp)

**Fluid renewal** 2 korda nädalas

**Post-Thaw Recovery** Pärast sulatamist külvake rakud tihedusega  $5 \times 10^4$  rakku/cm<sup>2</sup> ja laske neil kinnituda vähemalt 24-48 tundi. Hoidke rakke kõrges tiheduses (konfluentsus  $\geq 25\%$ ), et säilitada tihedate liideste moodustumine.

**Freeze medium** Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

## T84 rakud | 300354

### Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu  $300 \times g$  juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , niisutatud atmosfäär.

### Flask Coating

Puudub

### Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

### Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

## T84 rakud | 300354

### Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

## Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

### Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.

### HLA alleles

**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