

## T84-solut | 300354

## Yleisiä tietoja

<b>Description</b>	Tällä linjalla on tiukkoja liitoksia ja desmosomeja vierekkäisten solujen välillä. Solut on pidettävä korkeassa tiheydessä (vähintään 1/4 konfluenssista).
<b>Organism</b>	Ihminen
<b>Tissue</b>	Paksusuoli
<b>Disease</b>	Syöpä
<b>Metastatic site</b>	Keuhkot
<b>Applications</b>	Paksusuolisyövän tutkimus; suoliston epiteelibiologia; tiiviiden liitosten ja suojatoiminnan tutkimukset; paksusuolen aineenvaihdunnan fysiologia; kystisen fibroosin transmembraanikonduktanssiregulaattorin (CFTR) tutkimus; lääkeaineiden imeytyminen ja aineenvaihdunta; ksenotransplantaattimallit
<b>Synonyms</b>	T-84, T 84

## Ominaisuudet

<b>Age</b>	72 vuotta
<b>Gender</b>	Mies
<b>Ethnicity</b>	Etninen tausta määrittelemätön
<b>Morphology</b>	Epiteelin kaltainen
<b>Cell type</b>	Epiteelisolut
<b>Growth properties</b>	Tarttuva

## Säätelytiedot

<b>Citation</b>	T84 (Cytionin luettelonumero 300354)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606

## T84-solut | 300354

**CellosaurusAccession** CVCL\_0555**GMO Status** Ei geenimuuntelua; villityyppinen paksusuolisyöpäsolinja (KRAS G13D-heterotsygoottinen mutaatio on endogeeninen somaattinen muutos, ei geeniteknologinen muuntelu)**Biomolekyyli tiedot****Receptors expressed** Peptidihormoni, välittäjäaine**Antigen expression** Keratiini + (immunoperoksidaasivärjäys)**Isoenzymes** G6PD, B, PGM1, 1, PGM3, 1, ES-D, 1, Me-2, 1-2, AK-1, 1, GLO-1, 1-2**Tumorigenic** Kyllä, alastomilla hiirillä**Products** Karsinoembryoninen antigeeni (CEA), 600 ng/ml per 10 exp6-solua per 10 päivää, keratiini**Mutational profile** T84-soluissa on heterotsygoottinen Kras-mutaatio kodonissa 13: GGC(Wt Gly) >GAC(Asp)**Karyotype** Kantalinjan modaalin kromosomimäärä on 56, ja sitä esiintyy 28 prosentissa, ja polyploidia on 12,4 prosentissa. Kahdeksantoista markkeria on yhteistä useimmille tutkituille metafaaseille. Normaali x ja kromosomi 13 puuttuivat, kromosomit 2, 4 ja 22 olivat yksikopioisia, ja kromosomi 12 oli nelikopioinen. Y-kromosomia ei havaittu Q-kaistatarkastelussa. DM esiintyi lähes 50 prosentissa soluista.**Käsittely****Culture Medium** Ham's F12, w: 1,0 mM stabiilia glutamiinia, w: 1,0 mM natriumpyruvaattia, w: 1,1 g/L NaHCO<sub>3</sub> (Cytionin artikkelinumero 820600a)**Supplements** Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** noin 48–72 tuntia

## T84-solut | 300354

**Subculturing** Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.

**Split ratio** 1-3

**Seeding density**  $1-2 \times 10^4$  solua/cm<sup>2</sup> (pidä solutiheys vähintään 1/4:ssä, jotta tiiviiden liitosten fenotyyppi säilyy)

**Fluid renewal** 2 kertaa viikossa

**Post-Thaw Recovery** Sulatuksen jälkeen solut siirretään viljelyastioihin tiheydellä  $5 \times 10^4$  solua/cm<sup>2</sup> ja annetaan niiden kiinnittyä vähintään 24-48 tuntia. Soluja pidetään tiheässä viljelytilassa (konfluenssi  $\geq 25\%$ ), jotta tiiviiden liitoskohtien muodostuminen säilyy.

**Freeze medium** Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektanteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

## T84-solut | 300354

### Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvaa, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

### Incubation Atmosphere

37 °C, 5 %  $\text{CO}_2$ , kostutettu ilmakehä.

### Flask Coating

Ei mitään

### Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

### Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

## T84-solut | 300354

### Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välvaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

## Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

### Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.

### HLA-alleelit

**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