

T84-solut | 300354

Yleisiä tietoja

| | |
|------------------------|--|
| Description | Tällä linjalla on tiukkoja liitoksia ja desmosomeja vierekkäisten solujen välillä. Solut on pidettävä korkeassa tiheydessä (vähintään 1/4 konfluenssista). |
| Organism | Ihminen |
| Tissue | Paksusuoli |
| Disease | Syöpä |
| Metastatic site | Keuhkot |
| Synonyms | T-84, T 84 |

Ominaisuudet

| | |
|--------------------------|---------------------|
| Age | 72 vuotta |
| Gender | Mies |
| Morphology | Epiteelin kaltainen |
| Growth properties | Tarttuva |

Säätelytiedot

| | |
|-----------------------------|--------------------------------------|
| Citation | T84 (Cytionin luettelonumero 300354) |
| Biosafety level | 1 |
| NCBI_TaxID | 9606 |
| CellosaurusAccession | CVCL_0555 |

Biomolekyylitiedot

| | |
|----------------------------|-------------------------------|
| Receptors expressed | Peptidihormoni, välittäjäaine |
|----------------------------|-------------------------------|

T84-solut | 300354

| | |
|-----------------------------|---|
| 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 ₃ (Cytionin artikkelinumero 820600a) |
| Supplements | Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä |
| Dissociation Reagent | Accutase |
| 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. |
| Fluid renewal | 2 kertaa viikossa |
| 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 osmoprotektantteja 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 % 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