

## T84 sejtek | 300354

## Általános információk

<b>Description</b>	Ez a vonal szoros kötéseket és deszmoszómákat mutat a szomszédos sejtek között. A sejteket nagy sűrűségben kell tartani (legalább 1/4 konfluencia).
<b>Organism</b>	Emberi
<b>Tissue</b>	Vastagbél
<b>Disease</b>	Karcinóma
<b>Metastatic site</b>	Tüdő
<b>Applications</b>	Vastagbélrák-kutatás; bélhám-biológia; szoros illesztékek és gátfunkciók vizsgálata; vastagbél-transzport fiziológiája; cisztás fibrózis transzmembrán konduktancia-szabályozó (CFTR) kutatás; gyógyszerfelszívódás és -metabolizmus; xenotranszplantációs modellek
<b>Synonyms</b>	T-84, T 84

## Jellemzők

<b>Age</b>	72 év
<b>Gender</b>	Férfi
<b>Ethnicity</b>	Etnikai hovatartozás nem megadva
<b>Morphology</b>	Epithelszerű
<b>Cell type</b>	Epithel sejtek
<b>Growth properties</b>	Adherent

## Szabályozási adatok

<b>Citation</b>	T84 (Cytion katalógusszám: 300354)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606

## T84 sejtek | 300354

**CellosaurusAccession** CVCL\_0555**GMO Status** Nincs génmódosítás; vad típusú vastagbélrák-sejtvonal (a KRAS G13D heterozigóta mutáció endogén szomatikus változás, nem pedig génmódosítás)**Biomolekuláris adatok****Receptors expressed** Peptid hormon, neurotranszmitter**Antigen expression** Keratin + (immunoperoxidáz festés)**Isoenzymes** G6PD, B, PGM1, 1, PGM3, 1, ES-D, 1, Me-2, 1-2, AK-1, 1, GLO-1, 1-2**Tumorigenic** Igen, meztelen egerekben**Products** Karcinoembrionális antigén (CEA), 600 ng/ml per 10 exp6 sejt per 10 nap, keratin**Mutational profile** A T84 sejtek heterozigóta Kras mutációt hordoznak a 13-as kodonban: GGC(Wt Gly) >GAC(Asp)**Karyotype** A törzshálózati modális kromoszómaszám 56, amely 28%-ban fordul elő, a poliploidia aránya 12,4%. Tizennyolc marker közös a legtöbb vizsgált metafázisban. A normális x és a 13. kromoszóma hiányzott, a 2., 4. és 22. kromoszóma egyszeresen, a 12. kromoszóma pedig négyszeresen kopírozott volt. Q-sávós megfigyeléssel Y-kromoszómát nem mutattak ki. DM a sejtek közel 50%-ában fordult elő.**A kezelése****Culture Medium** Ham's F12, w: 1,0 mM stabil glutamin, w: 1,0 mM nátrium-piruvát, w: 1,1 g/L NaHCO<sub>3</sub> (Cytion cikkszám 820600a)**Supplements** A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** kb. 48–72 óra

## T84 sejtek | 300354

**Subculturing** Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.

**Split ratio** 1-3

**Seeding density**  $1-2 \times 10^4$  sejt/cm<sup>2</sup> (a szoros kapcsolódási fenotípus megőrzése érdekében a sejtek konfluenciáját legalább 1/4-es szinten kell tartani)

**Fluid renewal** hetente 2 alkalommal

**Post-Thaw Recovery** Felolvasztás után a sejteket  $5 \times 10^4$  sejt/cm<sup>2</sup> sűrűséggel ültessük be, és hagyjuk legalább 24-48 órán át tapadni. A szoros kapcsolódások kialakulásának fenntartása érdekében a sejteket magas sűrűségben ( $\geq 25\%$  konfluencia) tartjuk.

**Freeze medium** Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

## T84 sejtek | 300354

**Thawing and  
Culturing Cells**

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát  $-150\text{ °C}$  alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott  $37\text{ °C}$ -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a kriofülkét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet  $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejtet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejt kölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

**Incubation  
Atmosphere**

$37\text{ °C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , párasított légkör.

**Flask Coating**

Nincs

**Freezing  
Procedure**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül  $-78\text{ °C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

**Shipping  
Conditions**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül  $-78\text{ °C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

## T84 sejtek | 300354

### Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

## Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

### Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.

### HLA allélok

**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