

T84 ląstelės | 300354

Bendra informacija

Description	Šioje linijoje tarp gretimų ląstelių yra glaudžių jungčių ir desmosomų. Ląstelių tankis turi būti didelis (ne mažesnis kaip 1/4 susiliejimo).
Organism	Žmogus
Tissue	Storosios žarnos
Disease	Karcinoma
Metastatic site	Plaučiai
Synonyms	T-84, T 84

Charakteristikos

Age	72 metai
Gender	Vyras
Morphology	epitelį panašus
Growth properties	Priglundęs

Reguliavimo duomenys

Citation	T84 (Cytion katalogo numeris 300354)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0555

Biomolekuliniai duomenys

Receptors expressed	Peptidinis hormonas, neurotransmiteris
----------------------------	--

T84 ląstelės | 300354

Antigen expression	Keratinas + (imunoperoksidazės dažymas)
Isoenzymes	G6PD, B, PGM1, 1, PGM3, 1, ES-D, 1, Me-2, 1-2, AK-1, 1, GLO-1, 1-2
Tumorigenic	Taip, su nuogomis pelėmis
Products	Karcinoembrioninis antigenas (CEA), 600 ng/ml 10 eksp6 ląstelių per 10 dienų, keratinas
Mutational profile	T84 ląstelės turi heterozigotinę Kras mutaciją 13 kodone: GGC(Wt Gly) >GAC(Asp)
Karyotype	Stiebų linijos modalinis chromosomų skaičius yra 56, jų pasitaiko 28 %, o poliploidijos - 12,4 %. Aštuoniolika žymenų būdingi daugumai tirtų metafazių. Normalaus x ir 13 chromosomos nebuvo, 2, 4 ir 22 chromosomos buvo viengubos, o 12 chromosoma - keturguba. stebint Q juostą, Y chromosomos neaptikta. DM pasireiškė beveik 50 % ląstelių.
Tvarkymas	
Culture Medium	Ham's F12, w: 1,0 mM stabilus glutaminas, w: 1,0 mM natrio piruvatas, w: 1,1 g/L NaHCO3 (Cytion gaminio numeris 820600a)
Supplements	Papildykite terpę 10 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkeltkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.
Fluid renewal	2 kartus per savaitę
Freeze medium	Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

T84 ląstelės | 300354

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Nėra

**Freezing
Procedure**

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

**Shipping
Conditions**

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

T84 ląstelės | 300354

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystą azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.

HLA aleliai

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