

T84 šūnas | 300354

Vispārīga informācija

Description	Šajā līnijā starp blakus esošajām šūnām ir izveidojušies cieši savienojumi un desmosomas. Šūnas jāuztur lielā blīvumā (vismaz 1/4 konfluences).
Organism	Cilvēks
Tissue	Resnās zarnas
Disease	Karcinoma
Metastatic site	Plaušas
Applications	Kolorektālā vēža pētījumi; zarnu epitēlija bioloģija; pētījumi par ciešajiem savienojumiem un barjeras funkciju; resnās zarnas transporta fizioloģija; cistiskās fibrozes transmembrānas vadītspējas regulatora (CFTR) pētījumi; zāļu uzsūkšanās un metabolisms; ksenotransplantātu modeļi
Synonyms	T-84, T 84

Raksturojums

Age	72 gadi
Gender	Vīrieši
Ethnicity	Etniskā piederība nav norādīta
Morphology	Epitēlijveidīgs
Cell type	Epitēlija šūnas
Growth properties	Adherent

Normatīvie dati

Citation	T84 (Cytion kataloga numurs 300354)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606

T84 šūnas | 300354

CellosaurusAccession CVCL_0555**GMO Status** Nav ģenētiski modificēta; savvaļas tipa resnās zarnas karcinomas šūnu līnija (KRAS G13D heterozigotā mutācija ir endogēna somatiska izmaiņa, nevis ģenētiski inženierijas rezultāts)**Biomolekulārie dati****Receptors expressed** Peptidu hormons, neurotransmiters**Antigen expression** Keratīns + (imūnperoksidāzes krāsojums)**Isoenzymes** G6PD, B, PGM1, 1, PGM3, 1, ES-D, 1, Me-2, 1-2, AK-1, 1, GLO-1, 1-2**Tumorigenic** Jā, kailām pelēm**Products** Karcinoembrionālais antigēns (CEA), 600 ng/ml uz 10 eksp6 šūnām 10 dienas, keratīns**Mutational profile** T84 šūnās ir heterozigotiska Kras mutācija kodonā 13: GGC(Wt Gly) >GAC(Asp)**Karyotype** Cilmes līnijas modālais hromosomu skaits ir 56, sastopams 28 %, bet poliploidijas īpatsvars ir 12,4 %. Astoņpadsmit marķieri ir kopīgi lielākajai daļai pārbaudīto metafāžu. Normālā x un 13. hromosoma nebija sastopamas, 2., 4. un 22. hromosoma bija vienkopējas, bet 12. hromosoma bija četrcopēja. Q joslas novērojumā Y hromosoma netika konstatēta. DM sastopams gandrīz 50 % šūnu.**Darbs ar****Culture Medium** Hama F12, w: 1,0 mM stabils glutamīns, w: 1,0 mM nātrija piruvāts, w: 1,1 g/L NaHCO3 (Cytion izstrādājuma numurs 820600a)**Supplements** Papildināt barotni ar 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** aptuveni 48 līdz 72 stundas

T84 šūnas | 300354

Subculturing	Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.
Split ratio	no 1 līdz 3
Seeding density	1 līdz 2×10^4 šūnas/cm ² (jāuztur vismaz 1/4 konfluences pakāpe, lai saglabātu ciešo savienojumu fenotipu)
Fluid renewal	2 reizes nedēļā
Post-Thaw Recovery	Pēc atkausēšanas izsējiet šūnas ar blīvumu 5×10^4 šūnas/cm ² un ļaujiet tām piestiprināties vismaz 24–48 stundas. Uzturiet šūnas augstā blīvumā (≥ 25 % konfluences pakāpe), lai nodrošinātu ciešo savienojumu veidošanos.
Freeze medium	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

T84 šūnas | 300354

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

**Incubation
Atmosphere**37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.**Flask Coating**

Neviens

**Freezing
Procedure**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

T84 šūnas | 300354

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.

HLA alēles

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