

T84-cellen | 300354

Algemene informatie

Description	Deze lijn vertoont strakke juncties en desmosomen tussen aangrenzende cellen. De cellen moeten een hoge dichtheid hebben (minstens 1/4 confluentie).
Organism	Mens
Tissue	Kolon
Disease	Carcinoom
Metastatic site	Long
Applications	Onderzoek naar colorectale kanker; biologie van het darmepitheel; onderzoek naar tight junctions en barrièrefuncties; fysiologie van het transport in de dikke darm; onderzoek naar de cystische fibrose-transmembraanconductantieregulator (CFTR); absorptie en metabolisme van geneesmiddelen; xenotransplantaatmodellen
Synonyms	T-84, T 84

Kenmerken

Age	72 jaar
Gender	Mannelijk
Ethnicity	Etnische afkomst niet gespecificeerd
Morphology	Epitheelachtig
Cell type	Epitheelcellen
Growth properties	Aanhangend

Regelgevende gegevens

Citation	T84 (Cytion catalogusnummer 300354)
Biosafety level	1

T84-cellen | 300354

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0555

GMO Status Geen genetische modificatie; wildtype-celijn van coloncarcinoom (de heterozygote KRAS G13D-mutatie is een endogene somatische verandering, geen genetisch gemanipuleerde modificatie)

Biomoleculaire gegevens

Receptors expressed Peptide hormoon, neurotransmitter

Antigen expression Keratine + (Immunoperoxidase kleuring)

Isoenzymes G6PD, B, PGM1, 1, PGM3, 1, ES-D, 1, Me-2, 1-2, AK-1, 1, GLO-1, 1-2

Tumorigenic Ja, in naakte muizen

Products Carcinoembryonaal antigeen (CEA), 600 ng/ml per 10 exp6 cellen per 10 dagen, keratine

Mutational profile T84-cellen dragen een heterozygote Kras-mutatie in codon 13: GGC(Wt Gly) >GAC(Asp)

Karyotype Het modale chromosoomnummer van de stamlijn is 56, voorkomend bij 28% met polyploidie bij 12,4%. Achttien markers komen in de meeste onderzochte metafasen voor. Normaal x en chromosoom 13 waren afwezig, chromosomen 2, 4 en 22 waren enkelvoudig gekopieerd en chromosoom 12 was 4-voudig gekopieerd. Er werd geen Y-chromosoom gedetecteerd door Q-band observatie. DM kwam in bijna 50% van de cellen voor.

Omgaan met

Culture Medium Ham's F12, w: 1,0 mM stabiele Glutamine, w: 1,0 mM natriumpyruvaat, w: 1,1 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820600a)

Supplements Vul het medium aan met 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time ongeveer 48 tot 72 uur

T84-cellen | 300354

Subculturing Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenden en vervolgens centrifugeren bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.

Split ratio 1 tot en met 3

Seeding density 1 tot 2×10^4 cellen/cm² (houd de confluentie op minimaal 1/4 om het fenotype van de tight junctions te behouden)

Fluid renewal 2 keer per week

Post-Thaw Recovery Breng de cellen na het ontdooien uit op een celdichtheid van 5×10^4 cellen/cm² en laat ze minimaal 24-48 uur hechten. Houd de cellen op een hoge dichtheid ($\geq 25\%$ confluentie) om de vorming van tight junctions te behouden.

Freeze medium Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedum (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

T84-cellen | 300354

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij $300 \times g$ om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Geen

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

T84-cellen | 300354

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.

STR profiel

CSF1PO: 10
D13S317: 9
D16S539: 10,11
D5S818: 12
D7S820: 8,10
TH01: 6,9
TPOX: 8
vWA: 17,18
D3S1358: 19
D21S11: 31
D18S51: 17
Penta E: 14
Penta D: 9
D8S1179: 15
FGA: 24

HLA-allelen

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