

## Komórki T84 | 300354

## Informacje ogólne

<b>Description</b>	Linia ta wykazuje ścisłe połączenia i desmosomy między sąsiednimi komórkami. Komórki powinny być utrzymywane w wysokiej gęstości (co najmniej 1/4 konfluencji).
<b>Organism</b>	Człowiek
<b>Tissue</b>	Colon
<b>Disease</b>	Rak
<b>Metastatic site</b>	Płuco
<b>Applications</b>	Badania nad rakiem jelita grubego; biologia nabłonka jelitowego; badania nad połączeniami ścisłymi i funkcją barierową; fizjologia transportu w okrężnicy; badania nad regulatorem przewodnictwa transbłonowego w mukowiscydozie (CFTR); wchłanianie i metabolizm leków; modele przeszczepów heterogenicznych
<b>Synonyms</b>	T-84, T 84

## Charakterystyka

<b>Age</b>	72 lata
<b>Gender</b>	Męczyzna
<b>Ethnicity</b>	Pochodzenie etniczne nieokreślone
<b>Morphology</b>	Podobny do nabłonka
<b>Cell type</b>	Komórki nabłonkowe
<b>Growth properties</b>	Adherent

## Dane regulacyjne

<b>Citation</b>	T84 (numer katalogowy Cytion 300354)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606

**Komórki T84 | 300354****CellosaurusAccession** CVCL\_0555**GMO Status** Brak modyfikacji genetycznej; linia komórkowa raka jelita grubego typu dzikiego (heterozygotyczna mutacja KRAS G13D stanowi endogenną zmianę somatyczną, a nie modyfikację wynikającą z inżynierii genetycznej)**Dane biomolekularne****Receptors expressed** Hormon peptydowy, neuroprzekaźnik**Antigen expression** Keratyna + (barwienie immunoperoksydazą)**Isoenzymes** G6PD, B, PGM1, 1, PGM3, 1, ES-D, 1, Me-2, 1-2, AK-1, 1, GLO-1, 1-2**Tumorigenic** Tak, u nagich myszy**Products** Antygen rakowo-śródowy (CEA), 600 ng/ml na 10 komórek exp6 na 10 dni, keratyna**Mutational profile** Komórki T84 są nosicielami heterozygotycznej mutacji Kras w kodonie 13: GGC(Wt Gly) >GAC(Asp)**Karyotype** Modalna liczba chromosomów linii macierzystej wynosi 56, występując w 28% z poliploidią na poziomie 12,4%. Osiemnaście markerów jest wspólnych dla większości badanych metafaz. Normalny chromosom x i chromosom 13 były nieobecne, chromosomy 2, 4 i 22 były jednokopijne, a chromosom 12 był czterokopijny. Żaden chromosom Y nie został wykryty przez obserwację pasma Q. DM występował w prawie 50% komórek.**Obsługa****Culture Medium** Ham's F12, w: 1,0 mM stabilnej glutaminy, w: 1,0 mM pirogronianu sodu, w: 1,1 g/L NaHCO<sub>3</sub> (numer artykułu Cytion 820600a)**Supplements** Uzupetnić podłoże 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** ok. 48–72 godzin

## Komórki T84 | 300354

<b>Subculturing</b>	Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.
<b>Split ratio</b>	od 1 do 3
<b>Seeding density</b>	1 do $2 \times 10^4$ komórek/cm <sup>2</sup> (należy utrzymywać co najmniej 1/4 stopnia konfluencji, aby zachować fenotyp ścisłych połączeń)
<b>Fluid renewal</b>	2 razy w tygodniu
<b>Post-Thaw Recovery</b>	Po rozmrożeniu należy wysiać komórki w gęstości $5 \times 10^4$ komórek/cm <sup>2</sup> i pozostawić je na co najmniej 24–48 godzin w celu przylegania. Należy utrzymywać komórki w wysokiej gęstości (konfluencja $\geq 25\%$ ), aby zapewnić tworzenie się połączeń ścisłych.
<b>Freeze medium</b>	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

**Komórki T84 | 300354****Thawing and  
Culturing Cells**

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej  $-150^{\circ}\text{C}$ , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze  $37^{\circ}\text{C}$  z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością  $300 \times g$  przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

**Incubation  
Atmosphere**

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , nawilżona atmosfera.

**Flask Coating**

Brak

**Freezing  
Procedure**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około  $-78^{\circ}\text{C}$  przez czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

**Komórki T84 | 300354****Shipping  
Conditions**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

**Storage  
Conditions**

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

**Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA****Sterility**

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

**Profil STR**

**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

**Allele HLA**

**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