

**Células T84 | 300354****Informações gerais**

<b>Description</b>	Esta linha apresenta junções estreitas e desmossomas entre as células adjacentes. As células devem ser mantidas a uma densidade elevada (pelo menos 1/4 de confluência).
<b>Organism</b>	Humano
<b>Tissue</b>	Cólon
<b>Disease</b>	Carcinoma
<b>Metastatic site</b>	Pulmão
<b>Applications</b>	Investigação sobre o cancro colorretal; biologia do epitélio intestinal; estudos sobre as junções estreitas e a função de barreira; fisiologia do transporte no cólon; investigação sobre o regulador da condutância transmembranar da fibrose cística (CFTR); absorção e metabolismo de fármacos; modelos de xenoinxertos
<b>Synonyms</b>	T-84, T 84

**Caraterísticas**

<b>Age</b>	72 anos
<b>Gender</b>	Masculino
<b>Ethnicity</b>	Etnia não especificada
<b>Morphology</b>	De tipo epitelial
<b>Cell type</b>	Células epiteliais
<b>Growth properties</b>	Aderente

**Dados regulamentares**

<b>Citation</b>	T84 (número de catálogo Cytion 300354)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606

**Células T84 | 300354****CellosaurusAccession** CVCL\_0555**GMO Status** Sem modificação genética; linha celular de carcinoma do cólon do tipo selvagem (a mutação heterozigótica KRAS G13D é uma alteração somática endógena, não uma modificação resultante de engenharia genética)**Dados biomoleculares****Receptors expressed** Hormona peptídica, neurotransmissor**Antigen expression** Queratina + (coloração com imunoperoxidase)**Isoenzymes** G6PD, B, PGM1, 1, PGM3, 1, ES-D, 1, Me-2, 1-2, AK-1, 1, GLO-1, 1-2**Tumorigenic** Sim, em ratinhos nus**Products** Antígeno carcinoembrionário (CEA), 600 ng/ml por 10 células exp6 por 10 dias, queratina**Mutational profile** As células T84 são portadoras de uma mutação Kras heterozigótica no códon 13: GGC(Wt Gly) >GAC(Asp)**Karyotype** O número cromossômico modal da linha-tronco é 56, ocorrendo em 28% com poliploidia em 12,4%. Dezoito marcadores são comuns à maioria das metafases examinadas. O cromossoma X normal e o cromossoma 13 estavam ausentes, os cromossomas 2, 4 e 22 eram de cópia única e o cromossoma 12 era de 4 cópias. A DM ocorreu em quase 50% das células.**Manuseamento****Culture Medium** Ham's F12, com: 1,0 mM de glutamina estável, com: 1,0 mM de piruvato de sódio, com: 1,1 g/L NaHCO<sub>3</sub> (número de artigo Cytion 820600a)**Supplements** Completar o meio com 10% de FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** aprox. 48 a 72 horas

## Células T84 | 300354

<b>Subculturing</b>	Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e, nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.
<b>Split ratio</b>	1 a 3
<b>Seeding density</b>	1 a $2 \times 10^4$ células/cm <sup>2</sup> (manter, no mínimo, 1/4 de confluência para preservar o fenótipo das junções apertadas)
<b>Fluid renewal</b>	2 vezes por semana
<b>Post-Thaw Recovery</b>	Após a descongelação, semeie as células a uma densidade de $5 \times 10^4$ células/cm <sup>2</sup> e deixe-as aderir durante, pelo menos, 24-48 horas. Mantenha as células em alta densidade ( $\geq 25\%$ de confluência) para preservar a formação de junções apertadas.
<b>Freeze medium</b>	Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

## Células T84 | 300354

### Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a  $-150^{\circ}\text{C}$  para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a  $37^{\circ}\text{C}$  com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a  $300 \times g$  durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

### Incubation Atmosphere

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

### Flask Coating

Nenhum

### Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente  $-78^{\circ}\text{C}$  durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

## Células T84 | 300354

### Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

### Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

## Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

### Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.

### Alelos 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