

Celule T84 | 300354

Informații generale

| | |
|------------------------|---|
| Description | Această linie prezintă joncțiuni strânse și desmosomi între celulele adiacente. Celulele trebuie menținute la o densitate ridicată (cel puțin 1/4 confluență). |
| Organism | Om |
| Tissue | Colon |
| Disease | Carcinom |
| Metastatic site | Plămân |
| Applications | Cercetarea în domeniul cancerului colorectal; biologia epitelului intestinal; studii privind joncțiunile strânse și funcția de barieră; fiziologia transportului colonic; cercetarea privind regulatorul de conductanță transmembranară în fibroza chistică (CFTR); absorbția și metabolismul medicamentelor; modele de xenogrefă |
| Synonyms | T-84, T 84 |

Caracteristici

| | |
|--------------------------|---------------------|
| Age | 72 de ani |
| Gender | Masculin |
| Ethnicity | Etnie nespecificată |
| Morphology | De tip epitelial |
| Cell type | Celule epiteliale |
| Growth properties | Aderent |

Date de reglementare

| | |
|------------------------|--------------------------------------|
| Citation | T84 (număr de catalog Cytion 300354) |
| Biosafety level | 1 |
| NCBI_TaxID | 9606 |

Celule T84 | 300354

CellosaurusAccession CVCL_0555**GMO Status** Fără modificări genetice; linie celulară de carcinom de colon de tip sălbatic (mutația heterozigotă KRAS G13D este o mutație somatică endogenă, nu o modificare prin inginerie genetică)

Date biomoleculare

Receptors expressed Hormon peptidic, neurotransmițător**Antigen expression** Keratina + (colorare cu imunoperoxidază)**Isoenzymes** G6PD, B, PGM1, 1, PGM3, 1, ES-D, 1, Me-2, 1-2, AK-1, 1, GLO-1, 1-2**Tumorigenic** Da, la șoareci nude**Products** Antigen carcinoembrionar (CEA), 600 ng/ml per 10 celule exp6 per 10 zile, keratină**Mutational profile** Celulele T84 poartă o mutație Kras heterozigotă în codonul 13: GGC(Wt Gly) >GAC(Asp)**Karyotype** Numărul modal de cromozomi din linia tulpinii este de 56, fiind prezent la 28%, cu poliploidie la 12,4%. Optsprezece markeri sunt comuni pentru majoritatea metafazelor examinate. X normal și cromozomul 13 au fost absenți, cromozomii 2, 4 și 22 au fost cu o singură copie, iar cromozomul 12 a fost cu 4 copii. Nu a fost detectat niciun cromozom Y prin observarea benzii Q. DM a apărut în aproape 50% din celule.

Manipulare

Culture Medium Ham's F12, w: 1,0 mM glutamină stabilă, w: 1,0 mM piruvat de sodiu, w: 1,1 g/L NaHCO3 (număr articol Cytion 820600a)**Supplements** Suplimentați mediul cu 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** aproximativ 48-72 de ore

Celule T84 | 300354

Subculturing Îndepărtați mediul vechi de pe celulele aderente și spălați-le cu PBS care nu conține calciu și magneziu. Pentru flacoanele T25, se utilizează 3-5 ml de PBS, iar pentru flacoanele T75, 5-10 ml. Apoi, se acoperă celulele complet cu Accutase, folosind 1-2 ml pentru flacoanele T25 și 2,5 ml pentru flacoanele T75. Lăsați celulele la incubare la temperatura camerei timp de 8-10 minute pentru a le detașa. După incubare, amestecați ușor celulele cu 10 ml de mediu pentru a le resuspenda, apoi centrifugați la 300xg timp de 3 minute. Aruncați supernatantul, resuspendați celulele în mediu proaspăt și transferați-le în flacoane noi care conțin deja mediu proaspăt.

Split ratio 1-3

Seeding density 1 până la 2×10^4 celule/cm² (mențineți o confluență de cel puțin 1/4 pentru a păstra fenotipul joncțiunilor strânse)

Fluid renewal de 2 ori pe săptămână

Post-Thaw Recovery După decongelare, așezați celulele pe plăci la o densitate de 5×10^4 celule/cm² și lăsați-le să se adere timp de cel puțin 24-48 de ore. Mențineți celulele la o densitate ridicată (confluență $\geq 25\%$) pentru a asigura formarea joncțiunilor strânse.

Freeze medium Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezghețare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanți optimizați și stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea și a reduce stresul indus de criogenie.

Celule T84 | 300354

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual.
7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă.
8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , atmosferă umidificată.

Flask Coating

Niciuna

**Freezing
Procedure**

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

**Shipping
Conditions**

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Celule T84 | 300354

Storage Conditions

Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

Controlul calității / Profil genetic / HLA

Sterility

Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență.

Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.

Alele 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