

T84-celler | 300354

Allmän information

Description	Denna linje uppvisar tight junctions och desmosomer mellan intilliggande celler. Cellerna bör hållas vid hög densitet (minst 1/4 konfluency).
Organism	Människan
Tissue	Kolon
Disease	Carcinom
Metastatic site	Lungan
Applications	Forskning om kolorektal cancer; tarmepitelbiologi; studier av täta förbindelser och barriärfunktion; transportfysiologi i tjocktarmen; forskning om cystisk fibros-transmembranledningsregulator (CFTR); läkemedelsabsorption och metabolism; xenotransplantationsmodeller
Synonyms	T-84, T 84

Egenskaper

Age	72 år
Gender	Man
Ethnicity	Etnicitet ej angiven
Morphology	Epitelliknande
Cell type	Epiteliala celler
Growth properties	Följsam

Lagstadgade uppgifter

Citation	T84 (Cytion katalognummer 300354)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606

T84-celler | 300354

CellosaurusAccession CVCL_0555**GMO Status** Ingen genetisk modifiering; vildtyp av koloncancercellinje (den heterozygota KRAS G13D-mutationen är en endogen somatisk förändring, inte en genteknisk modifiering)**Biomolekylära data****Receptors expressed** Peptidhormon, neurotransmittor**Antigen expression** Keratin + (immunoperoxidasfärgning)**Isoenzymes** G6PD, B, PGM1, 1, PGM3, 1, ES-D, 1, Me-2, 1-2, AK-1, 1, GLO-1, 1-2**Tumorigenic** Ja, i nakna möss**Products** Carcinoembryonalt antigen (CEA), 600 ng/ml per 10 exp6 celler per 10 dagar, keratin**Mutational profile** T84-celler bär på en heterozygot Kras-mutation i kodon13: GGC(Wt Gly) >GAC(Asp)**Karyotype** Stamlinjens modala kromosomantal är 56, vilket förekommer hos 28% med polyploidi hos 12,4%. Arton markörer är gemensamma för de flesta undersökta metafaser. Normal x och kromosom 13 saknades, kromosomerna 2, 4 och 22 var enkelkopierade och kromosom 12 var 4-kopierad. Ingen Y-kromosom upptäcktes genom Q-bandsobservation. DM förekom i nästan 50% av cellerna.**Hantering****Culture Medium** Ham's F12, w: 1,0 mM stabilt glutamin, w: 1,0 mM natriumpyruvat, w: 1,1 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820600a)**Supplements** Komplettera mediet med 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** ca 48 till 72 timmar

T84-celler | 300354

Subculturing Ta bort det gamla mediet från de adherenta cellerna och tvätta dem med PBS som saknar kalcium och magnesium. Använd 3-5 ml PBS för T25-kolvar och 5-10 ml för T75-kolvar. Täck sedan cellerna helt med Accutase, använd 1-2 ml för T25-kolvar och 2,5 ml för T75-kolvar. Låt cellerna inkubera i rumstemperatur i 8-10 minuter så att de lossnar. Efter inkubationen, blanda cellerna försiktigt med 10 ml medium för att resuspendera dem och centrifugera sedan vid 300xg i 3 minuter. Kassera supernatanten, resuspendera cellerna i färskt medium och överför dem till nya kolvar som redan innehåller färskt medium.

Split ratio 1 till 3

Seeding density 1 till 2×10^4 celler/cm² (håll en konfluens på minst 1/4 för att bevara fenotypen för täta förbindelser)

Fluid renewal 2 gånger per vecka

Post-Thaw Recovery Efter upptining ska cellerna odlas ut med en täthet på 5×10^4 celler/cm² och få minst 24-48 timmar på sig att fästa. Håll cellerna vid hög täthet ($\geq 25\%$ konfluens) för att säkerställa bildandet av täta förbindelser.

Freeze medium Som kryokonservationsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryounducerad stress.

T84-celler | 300354

Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfryst vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeshuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid $300 \times g$ i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkanter; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befuktad atmosfär.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

Shipping Conditions

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

T84-celler | 300354

Storage Conditions

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik.

För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.

STR-profil

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-alleler

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