

**Bunky T84 | 300354****Všeobecné informácie**

<b>Description</b>	Táto línia vykazuje tesné spojenia a desmozómy medzi susednými bunkami. Bunky by sa mali udržiavať vo vysokej hustote (aspoň 1/4 konfluencie).
<b>Organism</b>	Ľudské
<b>Tissue</b>	Colon
<b>Disease</b>	Karcinóm
<b>Metastatic site</b>	Plúca
<b>Applications</b>	Výskum rakoviny hrubého čreva a konečníka; biológia črevného epitelu; štúdie tesných spojení a bariérových funkcií; fyziológia transportu v hrubom čreve; výskum regulátora transmembránovej vodivosti pri cystickej fibróze (CFTR); absorpcia a metabolizmus liekov; modely xenotransplantátov
<b>Synonyms</b>	T-84, T 84

**Charakteristika**

<b>Age</b>	72 rokov
<b>Gender</b>	Muži
<b>Ethnicity</b>	Etnická príslušnosť nebola uvedená
<b>Morphology</b>	Epitelu podobné
<b>Cell type</b>	Epitelové bunky
<b>Growth properties</b>	Adherent

**Regulačné údaje**

<b>Citation</b>	T84 (katalógové číslo Cytion 300354)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606

**Bunky T84 | 300354****CellosaurusAccession** CVCL\_0555**GMO Status** Bez genetickej modifikácie; bunková línia karcinómu hrubého čreva divokého typu (heterozygotná mutácia KRAS G13D je endogénna somatická zmena, nie genetická modifikácia)**Biomolekulárne údaje****Receptors expressed** Peptidový hormón, neurotransmitter**Antigen expression** Keratín + (farbenie imunoperoxidázou)**Isoenzymes** G6PD, B, PGM1, 1, PGM3, 1, ES-D, 1, Me-2, 1-2, AK-1, 1, GLO-1, 1-2**Tumorigenic** Áno, na nahých myšiach**Products** Karcinoembryonálny antigén (CEA), 600 ng/ml na 10 exp6 buniek za 10 dní, keratín**Mutational profile** Bunky T84 nesú heterozygotnú mutáciu Krasu v kodóne 13: GGC(Wt Gly) >GAC(Asp)**Karyotype** Modálny počet chromozómov v kmeňovej línii je 56 a vyskytuje sa v 28 %, pričom polyploidia predstavuje 12,4 %. Osemnásť markerov je spoločných pre väčšinu skúmaných metafáz. Normálny chromozóm x a chromozóm 13 chýbali, chromozómy 2, 4 a 22 boli jednokopírované a chromozóm 12 bol 4-kopírovaný. pozorovaním Q-pásov nebol zistený žiadny chromozóm Y. DM sa vyskytol v takmer 50 % buniek.**Spracovanie****Culture Medium** Ham's F12, w: 1,0 mM stabilný glutamín, w: 1,0 mM pyruvát sodný, w: 1,1 g/L NaHCO<sub>3</sub> (Cytion číslo výrobku 820600a)**Supplements** Doplňte médium o 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** približne 48 až 72 hodín

## Bunky T84 | 300354

**Subculturing** Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredujte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.

**Split ratio** 1 až 3

**Seeding density** 1 až  $2 \times 10^4$  buniek/cm<sup>2</sup> (udržujte aspoň 1/4 konfluencie, aby sa zachoval fenotyp tesných spojení)

**Fluid renewal** 2 krát týždenne

**Post-Thaw Recovery** Po rozmrazení naneste bunky na kultivačné misky v hustote  $5 \times 10^4$  buniek/cm<sup>2</sup> a nechajte ich prilnúť aspoň 24-48 hodín. Udržujte bunky vo vysokej hustote ( $\geq 25$  % konfluencie), aby sa zachovala tvorba tesných spojení.

**Freeze medium** Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

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

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

**Incubation  
Atmosphere**

37 °C, 5 %  $\text{CO}_2$ , zvlhčená atmosféra.

**Flask Coating**

Žiadne

**Freezing  
Procedure**

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

**Shipping  
Conditions**

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

## Bunky T84 | 300354

### Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

## Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

### Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.

### Alely 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