

Células T84 | 300354

Información general

Description	Esta línea celular presenta uniones estrechas y desmosomas entre las células adyacentes. Las células deben mantenerse a alta densidad (al menos 1/4 de confluencia).
Organism	Humano
Tissue	Dos puntos
Disease	Carcinoma
Metastatic site	Pulmón
Applications	Investigación sobre el cáncer colorrectal; biología del epitelio intestinal; estudios sobre las uniones estrechas y la función de barrera; fisiología del transporte colónico; investigación sobre el regulador de conductancia transmembrana de la fibrosis quística (CFTR); absorción y metabolismo de fármacos; modelos de xenoinjertos
Synonyms	T-84, T 84

Características

Age	72 años
Gender	Hombre
Ethnicity	Origen étnico no especificado
Morphology	De tipo epitelial
Cell type	Células epiteliales
Growth properties	Adherente

Datos normativos

Citation	T84 (número de catálogo de Cytion 300354)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606

Células T84 | 300354

CellosaurusAccession CVCL_0555

GMO Status Sin modificación genética; línea celular de carcinoma de colon de tipo silvestre (la mutación heterocigótica KRAS G13D es un cambio somático endógeno, no una modificación por ingeniería genética)

Datos biomoleculares

Receptors expressed Hormona peptídica, neurotransmisor

Antigen expression Queratina + (tinción con inmunoperoxidasa)

Isoenzymes G6PD, B, PGM1, 1, PGM3, 1, ES-D, 1, Me-2, 1-2, AK-1, 1, GLO-1, 1-2

Tumorigenic Sí, en ratones desnudos

Products Antígeno carcinoembrionario (CEA), 600 ng/ml por cada 10 exp6 células cada 10 días, queratina

Mutational profile Las células T84 presentan una mutación heterocigótica en el codón 13 del gen Kras: GGC (Gly, tipo salvaje) > GAC (Asp)

Karyotype El número modal de cromosomas de la línea madre es de 56, con una frecuencia del 28 %, mientras que la poliploidía se presenta en el 12,4 %. Dieciocho marcadores son comunes a la mayoría de las metafases examinadas. El cromosoma X normal y el cromosoma 13 estaban ausentes; los cromosomas 2, 4 y 22 presentaban una sola copia, y el cromosoma 12 presentaba cuatro copias. No se detectó ningún cromosoma Y mediante observación de bandas Q. Se observó DM en casi el 50 % de las células.

Manejo

Culture Medium F12 de Ham, con: 1,0 mM de glutamina estable, con: 1,0 mM de piruvato de sodio, con: 1,1 g/L de NaHCO₃ (número de artículo de Cytion 820600a)

Supplements Añade al medio un 10 % de FBS

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time aprox. de 48 a 72 horas

Células T84 | 300354

Subculturing Retira el medio usado de las células adheridas y lávalas con PBS sin calcio ni magnesio. Para los frascos T25, usa de 3 a 5 ml de PBS, y para los frascos T75, usa de 5 a 10 ml. Luego, cubra las células por completo con Accutase, utilizando de 1 a 2 ml para los frascos T25 y 2,5 ml para los frascos T75. Deje que las células se incuben a temperatura ambiente durante 8 a 10 minutos para desprenderse. Después de la incubación, mezcla suavemente las células con 10 ml de medio para resuspenderlas; luego, centrifuga a 300xg durante 3 minutos. Deseche el sobrenadante, resuspenda las células en medio fresco y transfíeralas a frascos nuevos que ya contengan medio fresco.

Split ratio 1 a 3

Seeding density De 1 a 2×10^4 células/cm² (mantener una confluencia mínima de 1/4 para preservar el fenotipo de las uniones estrechas)

Fluid renewal 2 veces por semana

Post-Thaw Recovery Después de descongelarlas, siembre las células a una densidad de 5×10^4 células/cm² y deje que se adhieran durante al menos 24–48 horas. Mantenga las células a alta densidad (≥ 25 % de confluencia) para preservar la formación de uniones estrechas.

Freeze medium Como medio de criopreservación, utilizamos un medio de crecimiento completo (que incluye FBS) + 10 % de DMSO para garantizar una viabilidad adecuada tras la descongelación, o CM-1 (número de catálogo de Cytion 800100), que incluye osmoprotectores y estabilizadores metabólicos optimizados para mejorar la recuperación y reducir el estrés inducido por la criopreservación.

Células T84 | 300354

Thawing and Culturing Cells

1. Verifique que el vial se mantenga profundamente congelado al momento de la entrega, ya que las células se envían en hielo seco para mantener temperaturas óptimas durante el transporte.
2. Al recibirlo, almacene el criovial inmediatamente a temperaturas inferiores a $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ para garantizar la preservación de la integridad celular, o bien continúe con el paso 3 si se requiere un cultivo inmediato.
3. Para el cultivo inmediato, descongele rápidamente el vial sumergiéndolo en un baño de agua a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ con agua limpia y un agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40 a 60 segundos hasta que quede un pequeño trozo de hielo.
4. Realice todos los pasos posteriores en condiciones estériles bajo una cabina de flujo laminar, desinfectando el criovial con etanol al 70 % antes de abrirlo.
5. Abra con cuidado el vial desinfectado y transfiera la suspensión celular a un tubo de centrifuga de 15 ml que contenga 8 ml de medio de cultivo a temperatura ambiente, mezclando suavemente.
6. Centrifugue la mezcla a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar las células y deseche con cuidado el sobrenadante que contenga medio de congelación residual.
7. Resuspende suavemente el sedimento celular en 10 ml de medio de cultivo fresco. Para las células adherentes, divide la suspensión entre dos frascos de cultivo T25; para los cultivos en suspensión, transfiera todo el medio a un solo frasco T25 para promover una interacción y un crecimiento celular efectivos.
8. Siga los protocolos de subcultivo establecidos para el crecimiento y mantenimiento continuos de la línea celular, asegurando resultados experimentales confiables.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % de CO_2 , atmósfera humidificada.

Shipping Conditions

Las líneas celulares criopreservadas se envían en hielo seco, en un embalaje aislante validado que contiene suficiente refrigerante para mantener una temperatura de aproximadamente $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante todo el transporte. Al recibir el envío, revise el contenedor de inmediato y traslade los viales sin demora al lugar de almacenamiento adecuado.

Storage Conditions

Para la conservación a largo plazo, coloque los viales en nitrógeno líquido en fase de vapor a una temperatura de entre -150 y $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$, aproximadamente. El almacenamiento a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ solo es aceptable como un paso intermedio breve antes de transferirlos al nitrógeno líquido.

Control de calidad y análisis molecular

Sterility

Se descarta la contaminación por micoplasmas mediante ensayos basados en PCR y métodos de detección de micoplasmas basados en luminiscencia.

Para garantizar que no haya contaminación bacteriana, fúngica o por levaduras, los cultivos celulares se someten a inspecciones visuales diarias.