

**Cellules T84 | 300354****Renseignements généraux**

<b>Description</b>	Cette lignée présente des jonctions serrées et des desmosomes entre les cellules adjacentes. Les cellules doivent être cultivées à haute densité (au moins 1/4 de confluence).
<b>Organism</b>	Humain
<b>Tissue</b>	Deux-points
<b>Disease</b>	Carcinome
<b>Metastatic site</b>	Poumon
<b>Applications</b>	Recherche sur le cancer colorectal; biologie de l'épithélium intestinal; études sur les jonctions serrées et la fonction de barrière; physiologie du transport colique; recherche sur le régulateur de conductance transmembranaire de la fibrose kystique (CFTR); absorption et métabolisme des médicaments; modèles de xénogreffes
<b>Synonyms</b>	T-84, T 84

**Caractéristiques**

<b>Age</b>	72 ans
<b>Gender</b>	Homme
<b>Ethnicity</b>	Origine ethnique non précisée
<b>Morphology</b>	De type épithélial
<b>Cell type</b>	Cellules épithéliales
<b>Growth properties</b>	Adepte

**Données réglementaires**

<b>Citation</b>	T84 (numéro de catalogue Cytion 300354)
<b>Biosafety level</b>	1

## Cellules T84 | 300354

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_0555

**GMO Status** Aucune modification génétique; lignée cellulaire de carcinome du côlon de type sauvage (la mutation hétérozygote KRAS G13D est une altération somatique endogène, et non une modification issue du génie génétique)

## Données biomoléculaires

**Receptors expressed** Hormone peptidique, neurotransmetteur

**Antigen expression** Kératine + (coloration à l'immunoperoxydase)

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

**Tumorigenic** Oui, chez les souris nues

**Products** Antigène carcino-embryonnaire (ACE), 600 ng/ml pour 10 exp6 cellules tous les 10 jours, kératine

**Mutational profile** Les cellules T84 sont porteuses d'une mutation hétérozygote du gène Kras au codon 13 : GGC (Wt Gly) > GAC (Asp)

**Karyotype** Le nombre modal de chromosomes de la lignée souche est de 56, observé dans 28 % des cas, la polyploidie représentant 12,4 %. Dix-huit marqueurs sont communs à la plupart des métaphases examinées. Le chromosome X normal et le chromosome 13 étaient absents, les chromosomes 2, 4 et 22 étaient présents en un seul exemplaire, et le chromosome 12 était présent en quatre exemplaires. Aucun chromosome Y n'a été détecté par observation en bandes Q. Une DM a été observée dans près de 50 % des cellules.

## Manipulation

**Culture Medium** F12 de Ham, contenant : 1,0 mM de glutamine stable, 1,0 mM de pyruvate de sodium, 1,1 g/L de NaHCO<sub>3</sub> (référence Cytion 820600a)

**Supplements** Ajouter 10 % de FBS au milieu de culture

**Dissociation Reagent** Accutase

**Doubling time** environ 48 à 72 heures

## Cellules T84 | 300354

**Subculturing** Retirez l'ancien milieu des cellules adhérentes et lavez-les avec du PBS sans calcium ni magnésium. Pour les flacons T25, utilisez 3 à 5 ml de PBS, et pour les flacons T75, utilisez 5 à 10 ml. Ensuite, recouvrez complètement les cellules d'Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laissez les cellules incuber à température ambiante pendant 8 à 10 minutes afin de les détacher. Après l'incubation, mélangez délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifugez à 300 x g pendant 3 minutes. Éliminez le surnageant, remettez les cellules en suspension dans du milieu frais, puis transférez-les dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.

**Split ratio** 1 à 3

**Seeding density** 1 à  $2 \times 10^4$  cellules/cm<sup>2</sup> (maintenir une densité d'au moins 1/4 de la confluence maximale afin de préserver le phénotype des jonctions serrées)

**Fluid renewal** 2 fois par semaine

**Post-Thaw Recovery** Après décongélation, ensemercer les cellules à raison de  $5 \times 10^4$  cellules/cm<sup>2</sup> et laisser au moins 24 à 48 heures pour l'adhérence. Maintenir les cellules à haute densité (confluence  $\geq 25$  %) afin de préserver la formation de jonctions serrées.

**Freeze medium** Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (contenant du sérum foetal bovin) + 10 % de DMSO pour assurer une viabilité adéquate après décongélation, ou du CM-1 (référence Cytion 800100), qui contient des osmoprotecteurs et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryoconservation.

## Cellules T84 | 300354

### Thawing and Culturing Cells

1. Assurez-vous que le flacon reste bien congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche afin de maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. À la réception, conservez immédiatement le cryofiole à une température inférieure à -150 °C pour garantir la préservation de l'intégrité cellulaire, ou passez à l'étape 3 si une culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une culture immédiate, décongelez rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37 °C contenant de l'eau propre et un agent antimicrobien, en agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit morceau de glace.
4. Effectuez toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux laminaire, en désinfectant le cryotube avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrez avec précaution le flacon désinfecté et transférez la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant délicatement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules, puis jeter avec précaution le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre délicatement le culot cellulaire en suspension dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension dans deux flacons de culture T25; pour les cultures en suspension, transférer la totalité du milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance cellulaires efficaces.
8. Respectez les protocoles de sous-culture établis pour assurer la croissance continue et le maintien de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

### Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % de CO<sub>2</sub>, atmosphère humidifiée.

### Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées dans de la glace sèche, dans un emballage isotherme validé contenant suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C pendant tout le transport. À la réception, inspectez immédiatement le conteneur et transférez sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

### Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placez les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre environ -150 et -196 °C. L'entreposage à -80 °C n'est acceptable qu'à titre d'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

## Cellules T84 | 300354

### Contrôle de la qualité et analyse moléculaire

#### **Sterility**

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes par luminescence.

Afin de s'assurer qu'il n'y a aucune contamination bactérienne, fongique ou par des levures, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.