

Células T84 | 300354**Informações gerais**

Description	Essa linhagem apresenta junções apertadas e desmossomos entre células adjacentes. As células devem ser mantidas em alta densidade (pelo menos 1/4 de confluência).
Organism	Humano
Tissue	Dois pontos
Disease	Carcinoma
Metastatic site	Pulmão
Applications	Pesquisa sobre câncer colorretal; biologia do epitélio intestinal; estudos sobre junções estreitas e função de barreira; fisiologia do transporte colônico; pesquisa sobre o regulador de condutância transmembranar da fibrose cística (CFTR); absorção e metabolismo de medicamentos; modelos de xenoenxertos
Synonyms	T-84, T 84

Características

Age	72 anos
Gender	Masculino
Ethnicity	Etnia não especificada
Morphology	De tipo epitelial
Cell type	Células epiteliais
Growth properties	Aderente

Dados regulatórios

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

Células T84 | 300354**CellosaurusAccession** CVCL_0555**GMO Status** Sem modificação genética; linhagem celular de carcinoma de cólon do tipo selvagem (a mutação heterozigótica KRAS G13D é uma alteração somática endógena, não uma modificação resultante de engenharia genética)**Dados biomoleculares****Receptors expressed** Hormônio peptídico, neurotransmissor**Antigen expression** Queratina + (coloração por imunoperoxidase)**Isoenzymes** G6PD, B, PGM1, 1, PGM3, 1, ES-D, 1, Me-2, 1-2, AK-1, 1, GLO-1, 1-2**Tumorigenic** Sim, em camundongos nude**Products** Antígeno carcinoembrionário (CEA), 600 ng/ml por 10 exp6 células a cada 10 dias, queratina**Mutational profile** As células T84 apresentam uma mutação heterozigótica no Kras no códon 13: GGC (Wt Gly) > GAC (Asp)**Karyotype** O número modal de cromossomos da linhagem-tronco é 56, ocorrendo em 28%, com poliploidia em 12,4%. Dezoito marcadores são comuns à maioria das metáfases examinadas. O cromossomo X normal e o cromossomo 13 estavam ausentes; os cromossomos 2, 4 e 22 apresentavam uma única cópia; e o cromossomo 12 apresentava quatro cópias. Nenhum cromossomo Y foi detectado pela observação de bandas Q. A DM ocorreu em quase 50% das células.**Manuseio****Culture Medium** F12 de Ham, contendo: 1,0 mM de glutamina estável, 1,0 mM de piruvato de sódio e 1,1 g/L de NaHCO₃ (número de artigo da Cytion: 820600a)**Supplements** Adicione 10% de FBS ao meio**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** aproximadamente 48 a 72 horas

Células T84 | 300354

Subculturing Remove o meio antigo das células aderentes e lave-as com PBS sem cálcio nem magnésio. Para frascos T25, use 3 a 5 ml de PBS; para frascos T75, use 5 a 10 ml. Em seguida, cubra as células completamente com Accutase, utilizando 1 a 2 ml para frascos T25 e 2,5 ml para frascos T75. Deixe as células incubarem à temperatura ambiente por 8 a 10 minutos para que se desprendam. Após a incubação, misture delicadamente as células com 10 ml de meio para ressuspender, depois centrifugue a 300xg por 3 minutos. Descarte o sobrenadante, ressuspenda as células em meio fresco e transfira-as para novos frascos que já contenham meio fresco.

Split ratio 1 a 3

Seeding density $1 \text{ a } 2 \times 10^4$ células/cm² (manter no mínimo 1/4 de confluência para preservar o fenótipo das junções apertadas)

Fluid renewal 2 vezes por semana

Post-Thaw Recovery Após o descongelamento, semeie as células a uma densidade de 5×10^4 células/cm² e aguarde pelo menos 24–48 horas para que se fixem. Mantenha as células em alta densidade ($\geq 25\%$ de confluência) para preservar a formação de junções apertadas.

Freeze medium Como meio de criopreservação, utilizamos meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% de DMSO para garantir viabilidade adequada após o descongelamento, ou CM-1 (número de catálogo da Cytion 800100), que inclui osmoprotetores e estabilizadores metabólicos otimizados para melhorar a recuperação e reduzir o estresse induzido pela criopreservação.

Células T84 | 300354

Thawing and Culturing Cells

1. Verifique se o frasco permanece profundamente congelado no momento da entrega, pois as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após o recebimento, armazene o criovial imediatamente a temperaturas abaixo de $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ para garantir a preservação da integridade celular ou prossiga para a etapa 3, caso seja necessária a cultura imediata.
3. Para cultura imediata, descongele rapidamente o frasco imergindo-o em um banho-maria a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente por 40 a 60 segundos até que reste apenas um pequeno pedaço de gelo.
4. Realize todas as etapas subsequentes em condições estéreis em uma cabine de fluxo, desinfetando o criovial com etanol a 70% antes de abri-lo.
5. Abra cuidadosamente o frasco desinfetado e transfira a suspensão celular para um tubo de centrifuga de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando delicadamente.
6. Centrifugue a mistura a $300 \times g$ por 3 minutos para separar as células e descarte cuidadosamente o sobrenadante contendo o meio de congelamento residual.
7. Ressuspender suavemente o sedimento celular em 10 ml de meio de cultura fresco. Para células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; para culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 a fim de promover a interação e o crescimento celular eficazes.
8. Siga os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento contínuo e a manutenção da linhagem celular, garantindo resultados experimentais confiáveis.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% de CO_2 , atmosfera umidificada.

Shipping Conditions

As linhagens celulares criopreservadas são enviadas em gelo seco, em embalagens isoladas e validadas, com refrigerante suficiente para manter a temperatura em aproximadamente $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante todo o transporte. Ao receber a remessa, inspecione o recipiente imediatamente e transfira os frascos sem demora para o local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para preservação a longo prazo, coloque os frascos em nitrogênio líquido em fase de vapor a uma temperatura entre aproximadamente -150 e $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$. O armazenamento a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ é aceitável apenas como uma etapa intermediária de curta duração antes da transferência para o nitrogênio líquido.

Controle de Qualidade e Análise Molecular

Células T84 | 300354

Sterility

A contaminação por micoplasma é descartada por meio de ensaios baseados em PCR e de métodos de detecção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não haja contaminação por bactérias, fungos ou leveduras, as culturas celulares são submetidas a inspeções visuais diárias.