Product sheet

Клетки U-118 MG | 300362

Обща информация

Description	Това е една от редица клетъчни линии, получени от злокачествени глиоми (вж. също U-87 MG, U-138 MG и U-373 MG) от J. Ponten и сътрудници в периода 1966-1969 г.
Organism	Човек
Tissue	Мозък
Disease	Астроцитом
Metastatic site	Неприложимо (първичен интракраниален тумор; без отдалечени метастази)
Applications	Изследвания върху глиобластома/астроцитома; биология на глиалните тумори; чувствителност към лъчева терапия; оценка на химиотерапията (темозоломид, CCNU); анализ на EGFR-пътя; NF-κB-сигнализация; предклинично моделиране на тумори на ЦНС
Synonyms	U-118 MG, U-118-MG, U118-MG, U118MG, U118, 118 MG, 118MG

Характеристики

Age	47 години
Gender	Мъжки
Ethnicity	Кавказки
Morphology	Смесени
Cell type	Глиални клетки (астроцитни)
Growth properties	Придържащи се

Регулаторни данни

Citation	U-118 MG (каталожен номер 300362 на Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606

Клетки U-118 MG | 300362

CellosaurusAccession	CVCL_0633
GMO Status	Без генетична модификация; клетъчна линия от глиом от див тип, изолирана от J. Ponten и др. (1966–1969)

Биомолекулярни данни

Antigen expression	Кръвна група A, Rh+, HLA Aw24, A28, B12, Bw47
Isoenzymes	Me-2, 1, PGM3, 2, PGM1, 2, ES-D, 1, AK-1, 1-2, GLO-1, 1-2, G6PD, B, Фенотип Честота на продукта: 0.0001
Tumorigenic	Да, при голи мишки
Karyotype	Линията има почти пентаплоиден брой хромозоми и широк диапазон на разпределение на броя хромозоми (40 % от клетките имат брой хромозоми в диапазона 110-115). Следните 14 маркера бяха открити в повечето метафази: t(1p,2p), t(3p,?), t(4p,11q), t(7p,22q), M6, t(9q,?), i(11q)18q t(10q,?), M14, M15, M16, M17 и t(10q,22q), 6 от тях бяха открити в някои, а 10 бяха наблюдавани само в една. Нормалните хромозоми 7, 8, 12, 19, 20 и 22 имаха 5 до 6 копия на клетка, X имаше две копия, а Y отсъстваше.

Работа с

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L глюкоза, w: 4 mM L-глутамин, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM натриев пируват (номер на изделието на Cytion 820300a)
Supplements	Допълнете средата с 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	приблизително 36 до 48 часа
Subculturing	Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.
Split ratio	от 1 до 3

Клетки U-118 MG | 300362

Seeding density	2 x 10^4 клетки/см2
Fluid renewal	2 до 3 пъти седмично
Post-Thaw Recovery	След размразяването разпределете клетките в култура с плътност 5 × 10^4 клетки/см^2 и изчакайте поне 24 часа, докато се прикрепят, преди първата смяна на средата.
Freeze medium	Като среда за криоконсервация използваме 50% базова среда + 40% FBS + 10% DMSO или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.

2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под -150 °C, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.

3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура 37 °C, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.

4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.

5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбъркате внимателно.

6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.

7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.

8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Клетки U-118 MG | 300362

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, овлажнена атмосфера.
Flask Coating	Няма
Freezing Procedure	Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.
Shipping Conditions	Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.
Storage Conditions	За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството и молекулярен анализ

Sterility	Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма. За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.
HLA алели	**A***: '24:02:01, '29:02:01 **B***: '39:06:02, '44:03:01 **C***: '07:02:01, '16:01:01 **DRB1***: '07:01:01, '08:01:01G **DQA1***: '02:01:01, '04:01:01 **DQB1***: '02:02:01, '04:02:01 **DPB1***: '04:02:01, '11:01:01 **E**: '01:01, '01:03