

Buňky T24 | 300352

Obecné informace

Description	Leukocyty a séra pacientů s karcinomem z přechodných buněk byly cytotoxické vůči T24 a příbuzným liniím.
Organism	Člověk
Tissue	Močový měchýř
Disease	Karcinom
Synonyms	T-24, T 24

Charakteristika

Age	82 let
Gender	Ženy
Ethnicity	Kavkazský
Morphology	Epitelu podobné
Growth properties	Adherentní

Regulační údaje

Citation	T24 (katalogové číslo Cytion 300352)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0554

Biomolekulární data

Antigen expression	HLA A1, A3, B18, Bw35, Cw4, DRw2, Dw4
---------------------------	---------------------------------------

Buňky T24 | 300352

Isoenzymes Me-2, 1-2, PGM3, 1, PGM1, 1, ES-D, 1, AK-1, 1, GLO-1, 1, G6PD, B, Fenotyp Frekvence produktu: 0.0216

Oncogenes H-ras+

Tumorigenic Ano, v křeččím lícním vaku. Ne u nahých myší

Products Nádorově specifický antigen

Karyotype Hypodiploidie až hypopentaploidie, kmenová linie 86, 2 až 4 telocentriky, 3 až 4 minuty, hypotetraploidie až hypertetraploidie s abnormalitami včetně dicentrik, zlomů, pulverizace, minut a telocentrických markerů

Zpracování

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glukózy, w: 2,5 mM L-Glutaminu, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM pyruvátu sodného, w: 1,2 g/l NaHCO₃ (číslo výrobku Cytion 820400a)

Supplements Doplněte médium o 5 % FBS

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 19 hodin

Subculturing Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčičku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.

Split ratio Doporučuje se poměr 1:3 až 1:8

Seeding density 1×10^4 buněk/cm²

Post-Thaw Recovery Po rozmrazení naneste buňky v množství 5×10^4 buněk/cm² a nechte je alespoň 24 hodin zotavit se z procesu zmrazení a přilnout.

Freeze medium Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryem.

Buňky T24 | 300352

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

**Incubation
Atmosphere**37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.**Flask Coating**

Žádný

**Freezing
Procedure**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

**Shipping
Conditions**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Buňky T24 | 300352**Storage
Conditions**

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA**Sterility**

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.

Profil STR

Amelogenin: x,x
CSF1PO: 10,12
D13S317: 12
D16S539: 9
D5S818: 10,12
D7S820: 10,11
TH01: 6
TPOX: 8,11
vWA: 17,19
D3S1358: 16
D21S11: 29
D18S51: 16,18
Penta E: 7,10
Penta D: 11,15
D8S1179: 9,14
FGA: 17,22
D1S1656: 12,15
D6S1043: 11
D2S1338: 20,23
D12S391: 17,18
D19S433: 13,14

Alely HLA

A*: '01:01:01
B*: '18:01:01
C*: '05:01:01
DRB1*: '03:01:01
DQA1*: '05:01:01
DQB1*: '02:01:01
DPB1*: '04:01:01
E: '01:01:01