Product sheet

Buňky CLS-439 | 300150

Obecné informace

Description	Stanoveno z primárního karcinomu močového měchýře 61letého muže v roce 1998 metodou CLS.
Organism	Člověk
Tissue	Močový měchýř
Disease	Karcinom
Synonyms	CLS439

Charakteristika

Age	61 let
Gender	Muži
Ethnicity	Kavkazský
Morphology	Epitelu podobné
Growth properties	Adherentní

Regulační údaje

Citation	CLS-439 (katalogové číslo Cytion 300150)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_5982

Biomolekulární data

Tumorigenic	Ano, u nahých myší

Zpracování

Product sheet

Buňky CLS-439 | 300150

Culture Medium	McCoys 5a, w: 3,0 g/l glukóza, w: stabilní glutamin, w: 2,0 mM pyruvát sodný, w: 2,2 g/l NaHCO3 (číslo článku Cytion 820200a)
Supplements	Doplňte médium o 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	35 hodin
Subculturing	Odstraňte médium a opláchněte adherované buňky pomocí PBS bez vápníku a hořčíku (3-5 ml PBS pro baňky T25, 5-10 ml pro baňky T75). Přidejte TrypleExpress (1-2 ml na T25, 2,5 ml na baňku s buněčnou kulturou T75), buněčný list musí být zcela pokryt. Inkubujte při pokojové teplotě po dobu 10 minut. Opatrně resuspendujte buňky, přidání média je volitelné, ale není nutné, a rozdělte je do nových baněk, které obsahují čerstvé médium.
Split ratio	Doporučuje se poměr 1:4 až 1:8
Seeding density	1 x 10^4 buněk/cm^2 vytvoří konfluentní vrstvu přibližně za 3 dny.
Fluid renewal	2 až 3krát týdně
Post-Thaw Recovery	Po rozmrazení musí buňky odpočívat minimálně 24 hodin při 37 stupních Celsia/5 %$_{CO2}$
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 kryo.

Buňky CLS-439 | 300150

Thawing and Culturing Cells	1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmražená, 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 odstřeďujte 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 % $_{CO2}$, 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 CLS-439 | 300150

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 a molekulární analýza

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**: 12 **D13S317**: 11 **D16S539**: 10,13 **D5S818**: 11 **D7S820**: 10,11 **TH01**: 7 **TPOX**: 9,10 **vWA**: 17 **D3S1358**: 16 **D21S11**: 29,31 **D18S51**: 14 **Penta E**: 12,16 **Penta D**: 9,12 **D8S1179**: 11,13 **FGA**: 20
Alely HLA	**A***: '01:01:01, '11:01:01 **B***: '08:01:01 **C***: '07:01:01 **DRB1***: '03:01:01 **DQA1***: '05:01:01 **DQB1***: '02:01:01 **DPB1***: '04:01:01G, '04:02:01G **E**: '01:01:01