

Buňky PLC/PRF/5 | 300315**Obecné informace**

Description	Buňky produkují HBsAg. V současné době neexistuje žádný důkaz, že by tato buněčná linie produkovala infekční virus hepatitidy B.
Organism	Člověk
Disease	Hepatocelulární karcinom
Synonyms	PLC-PRF-5, PLC PRF 5, PLC/PRF5, PLCPRF5, PLC-8024, PLC8024, PLC, Alexanderovy buňky, Alexander, Nadace pro výzkum primárního karcinomu jater/poliomyelitidy/5

Charakteristika

Age	24 let
Gender	Muži
Ethnicity	Africké
Cell type	Alexandrovsky buňky
Growth properties	Adherentní

Regulační údaje

Citation	PLC/PRF/5 (katalogové číslo Cytion 300315)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0485

Biomolekulární data

Products	Povrchový antigen viru hepatitidy B (HBsAg)
Karyotype	Průměrný počet: 56, heteroploidní, s markerovými chromozomy

Buňky PLC/PRF/5 | 300315

Zpracování

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutaminu, w: 3,7 g/l NaHCO ₃ , w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)
Supplements	Doplňte médium o 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	35 až 40 hodin
Subculturing	Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. 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 1:4
Seeding density	1×10^4 buněk/cm ²
Fluid renewal	2krát týdně
Post-Thaw Recovery	Po rozmrazení naneste buňky v množství 5×10^4 buněk/cm ² 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 kryo.

Buňky PLC/PRF/5 | 300315**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 odstřeďte 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 PLC/PRF/5 | 300315**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
D13S317: 11,12
D16S539: 13
D5S818: 12
D7S820: 9,11
TH01: 7,8
TPOX: 8
vWA: 15,16
D3S1358: 15
D21S11: 30,33.2
D18S51: 17
Penta E: 10,16
Penta D: 6,1
D8S1179: 13,16
FGA: 19.2,25
D1S1656: 14
D6S1043: 13,21
D2S1338: 19
D12S391: 20
D19S433: 11,13

Alely HLA

A*: '03:01:01, '33:03:01
B*: '42:02:01, '53:01:01
C*: '04:01, '17:XX
DRB1*: '08:04:01, '13:01:01
DQA1*: '01:03:01, '04:01:02
DQB1*: '03:19:01, '06:03:01
DPB1*: '04:XX, '18:01
E: '01:01, '01:03