

Buňky TE-671 | 300355

Obecné informace

Description Původní buněčná linie TE671 vznikla explantátovou kultivací z fragmentů biopsie mozečkového meduloblastomu. Buněčný kmen byl izolován odebráním několika vícevrstevných kulatých nebo polygonálních buněk, které byly proloženy monovrstvami stromálních gliových buněk pomocí Pasteurových pipet. Tvoří kolonie v měkkém agarovém médiu. Při zkoumání elektronovým mikroskopem nebyly pozorovány nervové nebo gliové elementy a nebyly zjištěny žádné viry. Buňky mají funkční nikotinové acetylcholinové receptory. Nebyla zjištěna žádná aktivita cholin acetyltransferázy ani tyrosin hydroxylázy. Cytogenetické studie provedené Strattonem et al. (1989) odhalily, že TE671 a RD jsou deriváty stejné buněčné linie rhabdomyosarkomového původu.

Organism Člověk

Tissue Svaly

Disease Rabdomyosarkom

Synonyms TE671, TE 671, TE671/RD

Charakteristika

Age 7 let

Gender Ženy

Morphology Epitelu podobné

Growth properties Adherentní

Regulační údaje

Citation TE-671 (katalogové číslo Cytion 300355)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_1756

Biomolekulární data

Buňky TE-671 | 300355

Receptors expressed Acetylcholinový receptor, periferní typ benzodiazepinového receptoru

Antigen expression Vimentin+, desmin+, keratin- (MNF-116)

Karyotype 2n=47, 42 % má 48 chromozomů

Zpracování

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutaminu, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)

Supplements Doplněte médium o 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

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 rozpusťte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.

Split ratio Doporučuje se poměr 1:3

Seeding density 1×10^4 buněk/cm²

Fluid renewal 2 až 3krát týdně

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 50% základní médium + 40% FBS + 10% DMSO nebo CM-1 (katalogové číslo Cytion 800100), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu vyvolaného kryo.

Buňky TE-671 | 300355

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 TE-671 | 300355

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,y
CSF1PO: 10,11
D13S317: 13
D16S539: 10,11
D5S818: 10,11
D7S820: 8,12
TH01: 9,3
TPOX: 9
vWA: 18
D3S1358: 15,17
D21S11: 28,29
D18S51: 13
Penta E: 12
Penta D: 11,13
D8S1179: 11,15
FGA: 20,21
PEZ6: SV-80