

PLC/PRF/5-celler | 300315

Generel information

Description	Cellerne producerer HBsAg. På nuværende tidspunkt er der ingen beviser for, at denne cellelinje producerer smitsom hepatitis B-virus.
Organism	Menneske
Disease	Hepatocellulært karcinom
Synonyms	PLC-PRF-5, PLC PRF 5, PLC/PRF5, PLCPRF5, PLC-8024, PLC8024, PLC, Alexander-celler, Alexander, Primary Liver Carcinoma/Poliomyelitis Research Foundation/5

Karakteristika

Age	24 år
Gender	Mand
Ethnicity	Afrikansk
Cell type	Alexander-celler
Growth properties	Vedhæftende

Regulatoriske data

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

Biomolekylære data

Products	Hepatitis virus B overfladeantigen (HBsAg)
Karyotype	Gennemsnitligt antal: 56, heteroploid, med markørkromosomer

PLC/PRF/5-celler | 300315

Håndtering

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glukose, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)
Supplements	Suppler mediet med 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	35 til 40 timer
Subculturing	Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspend cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.
Split ratio	Det anbefales at bruge et blandingsforhold på 1:4
Seeding density	1×10^4 celler/cm ²
Fluid renewal	2 gange om ugen
Post-Thaw Recovery	Efter optøning skal cellerne udplades med 5×10^4 celler/cm ² , og cellerne skal have lov til at komme sig efter frysningsprocessen og hæfte sig fast i mindst 24 timer.
Freeze medium	Som kryopræservationsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmoteskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.

PLC/PRF/5-celler | 300315

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befugtet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

PLC/PRF/5-celler | 300315**Storage
Conditions**

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA**Sterility**

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.

STR-profil

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: 19,225
D1S1656: 14
D6S1043: 13,21
D2S1338: 19
D12S391: 20
D19S433: 11,13

HLA-alleler

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