

TE-671-celler | 300355

Generel information

Description Den oprindelige TE671-cellelinje blev dannet ved dyrkning af eksplantater fra biopsifragmenter af et cerebellart medulloblastom. Cellestammen blev isoleret ved at plukke nogle få af de flerlagede runde eller polygonale celler, som var spredt i monolag af stromale gliaceller ved hjælp af Pasteur-pipetter. Danner kolonier i blødt agarmedium. Der blev ikke observeret neurale eller gliale elementer ved undersøgelse med elektronmikroskop, og der blev ikke påvist virus. Cellerne har funktionelle nikotiniske acetylcholinreceptorer. Ingen cholinacetyltransferase- eller tyrosinhydroxylase-aktiviteter kan påvises. Cytogenetiske undersøgelser foretaget af Stratton et al. (1989) har afsløret, at TE671 og RD er derivater af den samme cellelinje af rhabdomyosarkomoprindelse.

Organism Menneske

Tissue Muskler

Disease Rhabdomyosarkom

Synonyms TE671, TE 671, TE671/RD

Karakteristika

Age 7 år

Gender Kvinde

Morphology Epitel-lignende

Growth properties Vedhæftende

Regulatoriske data

Citation TE-671 (Cytion katalognummer 300355)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_1756

Biomolekylære data

TE-671-celler | 300355

Receptors expressed Acetylkolinreceptor, perifer type benzodiazepinreceptor

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

Karyotype 2n=47, 42% har 48 kromosomer

Håndtering

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L glukose, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)

Supplements Suppler mediet med 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

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.

Seeding density 1×10^4 celler/cm²

Fluid renewal 2 til 3 gange om ugen

Post-Thaw Recovery Efter optøning skal cellerne udplades med 5×10^4 celler/cm², og cellerne skal have lov til at komme sig efter frysningsprocessen og hæfte sig fast i mindst 24 timer.

Freeze medium Som kryopræservesmedium bruger vi 50 % basalmedium + 40 % FBS + 10 % DMSO eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende midler og metaboliske stabilisatorer for at øge gendannelsen og reducere kryo-induceret stress.

TE-671-celler | 300355

**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.

TE-671-celler | 300355

**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.