

Colo-824 šūnas | 300463

Vispārīga informācija

| | |
|------------------------|--|
| Description | Šūnas nepanes DMSO. Pēc atkausēšanas DMSO ir nekavējoties jānoņem centrifugējot. |
| Organism | Cilvēks |
| Tissue | Krūtis, piena dziedzeris |
| Disease | Plakanšūnu karcinoma |
| Metastatic site | Pleiras izsvīdums |
| Synonyms | COLO-824, COLO 824, Colo 824, COLO #824, COLO824, Colo824, Colorado 824 |

Raksturojums

| | |
|--------------------------|-----------------------|
| Age | 52 gadi |
| Gender | Sievietes |
| Ethnicity | Kaukāzietis |
| Morphology | Epitēlijveidīgs |
| Growth properties | Pielipšana/suspensija |

Normatīvie dati

| | |
|-----------------------------|--|
| Citation | COLO-824 (Cytion kataloga numurs 300463) |
| Biosafety level | 1 |
| NCBI_TaxID | 9606 |
| CellosaurusAccession | CVCL_1136 |

Biomolekulārie dati

Colo-824 šūnas | 300463

Protein expression P53 negatīvs

Tumorigenic Jā, kailām pelēm

Darbs ar

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820700a)

Supplements Papildināt barotni ar 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 3 dienas

Subculturing Savāc suspensijas šūnas 15 ml mēģenē un saudzīgi izmazgā pielipušās šūnas ar PBS bez kalcija un magnija (T25 kolbām izmanto 3-5 ml, bet T75 kolbām - 5-10 ml). Uzklājiet Accutase (1-2 ml T25 kolbām, 2,5 ml T75 kolbām), nodrošinot pilnīgu šūnu slāņa pārklājumu. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 10 minūtes. Pēc inkubācijas apvienot un centrifugēt gan suspensiju, gan pielipušās šūnas. Pēc centrifugēšanas uzmanīgi resuspendēt šūnu granulas un pārvietot šūnu suspensiju jaunās kolbās ar svaigu barotni.

Seeding density 1×10^4 šūnas/cm²

Fluid renewal 2 līdz 3 reizes nedēļā

Post-Thaw Recovery Pēc atkausēšanas izklaidējiet šūnas uz šķīvja ar blīvumu 5×10^4 šūnas/cm² un ļaujiet šūnām atgūties no sasaldēšanas procesa un pielipt vismaz 24 stundas.

Freeze medium Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

Colo-824 šūnas | 300463

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Neviens

Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Colo-824 šūnas | 300463

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.

HLA alēles

A*: '01:01:01, '34:02:01

B*: '13:02:01, '44:03:01

C*: '04:01:01, '06:02:01

DRB1*: '07:01:01, '15:03:01G

DQA1*: '01:02:01, '02:01:01

DQB1*: '02:02:01, '06:02:01

DPB1*: '04:01:01, '105:01:01

E: '01:01:01