

C-33 A Cellen | 305072

Algemene informatie

Description

C-33 A-cellen zijn afkomstig uit het baarmoederhalsweefsel van een 66-jarige Kaukasische vrouw bij wie baarmoederkanker was vastgesteld. Deze cellijn wordt gekenmerkt door een unieke genetische verandering in het TP53-gen, waarbij een puntmutatie op codon 273 resulteert in een vervanging van arginine door cysteïne, wat leidt tot een verhoogde expressie van het p53-eiwit. Deze mutatie speelt een cruciale rol in de pathofysiologie van de cellen en beïnvloedt hun groei-eigenschappen en tumorigene potentieel.

Met name is bevestigd dat C-33 A-cellen tumorigene cellen zijn. Bij introductie in immunodeficiënte naaktmuizen kunnen deze cellen ongedifferentieerde carcinomen vormen, wat hun nut voor kankeronderzoek benadrukt, met name in studies die gericht zijn op het begrijpen van de mechanismen van tumorinitiatie en -progressie bij baarmoederhalskanker. Bovendien zijn deze cellen negatief voor zowel DNA als RNA van humaan papillomavirus (HPV), waardoor ze zich onderscheiden van veel andere baarmoederhalskankercellijnen die vaak HPV-integraties dragen. Dit aspect maakt C-33 A-cellen bijzonder waardevol voor het bestuderen van baarmoederhalskanker die zich onafhankelijk van HPV-infectie ontwikkelt en biedt inzicht in alternatieve routes van carcinogenese.

Organism

Mens

Tissue

Baarmoederhals

Disease

Plaveiselcelcarcinoom van de baarmoederhals uteri

Synonyms

C33A, C33a, C33-A, C-33-A, C-33A, C33

Kenmerken

Age

66 jaar

Gender

Vrouw

Morphology

Epitheel

Growth properties

Aanhangend

Regelgevende gegevens

Citation

C33A (Cytion catalogusnummer 305072)

Biosafety level

1

C-33 A Cellen | 305072

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_1094

Biomoleculaire gegevens

Protein expression Oncogenen: P53 , Prb

Tumorigenic Ja

Omgaan met

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamine, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytion artikelnummer 820100a)

Supplements Vul het medium aan met 10% FBS en 1% NEAA

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenden en vervolgens centrifugereren bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.

Split ratio 1:2 tot 1:4

Fluid renewal 2 tot 3 keer per week

Freeze medium Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedum (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

C-33 A Cellen | 305072

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij $300 \times g$ om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Geen

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

C-33 A Cellen | 305072

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.

STR profiel

Amelogenin: x,x
CSF1PO: 12,12
D13S317: 13,13
D16S539: 13,14
D5S818: 11,12
D7S820: 10,10
TH01: 7,8
TPOX: 9,9
vWA: 18,20
D3S1358: 16,16
D21S11: 29,30,31
D18S51: 15,18
Penta E: 6,8
Penta D: 10,10
D8S1179: 10,14
FGA: 21,26
D6S1043: 9,11,12
D2S1338: 23,25
D12S391: 18,27,28
D19S433: 11,13,14