

CLS-439 Cellen | 300150

Algemene informatie

Description	Vastgesteld uit het primaire blaascarcinoom van een 61-jarige man in 1998 door CLS.
Organism	Mens
Tissue	Blaas
Disease	Carcinoom
Synonyms	CLS439

Kenmerken

Age	61 jaar
Gender	Mannelijk
Ethnicity	Kaukasisch
Morphology	Epitheelachtig
Growth properties	Aanhangend

Regelgevende gegevens

Citation	CLS-439 (Cytion catalogusnummer 300150)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_5982

Biomoleculaire gegevens

Tumorigenic	Ja, in naakte muizen
--------------------	----------------------

Omgaan met

CLS-439 Cellen | 300150

Culture Medium McCoys 5a, w: 3,0 g/L Glucose, w: stabiel Glutamine, w: 2,0 mM Natriumpyruvaat, w: 2,2 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820200a)

Supplements Vul het medium aan met 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 35 uur

Subculturing Verwijder medium en spoel de adherente cellen met PBS zonder calcium en magnesium (3-5 ml PBS voor T25, 5-10ml voor T75 celweekflessen). Voeg TrypleExpress toe (1-2ml per T25, 2,5ml per T75 celweekfles), het celblad moet volledig bedekt zijn. Incubeer gedurende 10 minuten bij omgevingstemperatuur. Resuspendeer de cellen voorzichtig, de toevoeging van medium is optioneel maar niet noodzakelijk, en breng ze over in nieuwe kolven met vers medium.

Split ratio Een verhouding van 1:4 tot 1:8 wordt aanbevolen

Seeding density 1×10^4 cellen/cm² resulteert in een confluente laag in ongeveer 3 dagen.

Fluid renewal 2 tot 3 keer per week

Post-Thaw Recovery De cellen moeten na het ontdooien minimaal 24 uur rusten bij 37 graden Celsius/5%_{CO2}

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.

CLS-439 Cellen | 300150

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.

CLS-439 Cellen | 300150

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
D13S317: 11
D16S539: 10,13
D5S818: 11
D7S820: 10,11
TH01: 7
TPOX: 9,10
vWA: 17
D3S1358: 16
D21S11: 29,31
D18S51: 14
Penta E: 12,16
Penta D: 9,12
D8S1179: 11,13
FGA: 20

HLA-allelen

A*: '01:01:01, '11:01:01
B*: '08:01:01
C*: '07:01:01
DRB1*: '03:01:01
DQA1*: '05:01:01
DQB1*: '02:01:01
DPB1*: '04:01:01G, '04:02:01G
E: '01:01:01