

CLS-145-celler | 300180

Generell informasjon

Description

CLS-145-cellelinjen er en primærkultur som er etablert fra tumorfragmenter fra en pasient som har fått diagnosen ondartet svulst. Denne cellelinjen ble avledet uten at pasienten ble utsatt for noen form for terapeutisk behandling, noe som bevarer tumorcellenes opprinnelige genetiske og fenotypiske egenskaper. Fraværet av tidligere behandling er avgjørende, ettersom det sikrer at de cellulære egenskapene ikke har blitt endret av kjemoterapeutiske midler eller stråling, noe som gir en mer nøyaktig modell for å studere svulstens naturlige progresjon og egenskaper.

Organism

Menneskelig

Tissue

Mage

Disease

Papillært adenokarsinom i magesekken

Synonyms

CLS145

Kjennetegn

Age

70 år

Gender

Kvinne

Ethnicity

Kaukasisk

Morphology

Epitel-lignende

Growth properties

Monolag, vedheftende

Regulatoriske data

Citation

CLS-145 (Cytion-katalognummer 300180)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

CellosaurusAccession

CVCL_5727

CLS-145-celler | 300180

Biomolekylære data

| | |
|---------------------------|--|
| Protein expression | P53-positiv |
| Tumorigenic | Ja, i nakne mus (rytme 20-30 dager) |
| Karyotype | Modalt antall: Modus for 109 og 110 kromosomer |

Håndtering

| | |
|-----------------------------|--|
| Culture Medium | DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glukose, w: 2,5 mM L-glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natriumpyruvat, w: 1,2 g/L NaHCO ₃ (Cytion artikkelnummer 820400a) |
| Supplements | Suppler mediet med 10 % FBS |
| Dissociation Reagent | Accutase |
| Doubling time | 36 timer |
| Subculturing | Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspendere cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium. |
| Split ratio | Et forhold på 1:2 til 1:6 anbefales |
| Seeding density | 1×10^4 celler/cm ² vil gi et sammenvokst lag på omtrent 4 dager. |
| Fluid renewal | 2 til 3 ganger per uke |
| Post-Thaw Recovery | Etter tining, plasser cellene på 5×10^4 celler/cm ² og la cellene komme seg etter fryseprosessen og feste seg i minst 24 timer. |
| Freeze medium | Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoindusert stress. |

CLS-145-celler | 300180

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

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

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

CLS-145-celler | 300180

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.

STR-profil

Amelogenin: x,x
CSF1PO: 11
D13S317: 11,12
D16S539: 11,12
D5S818: 13
D7S820: 11
TH01: 7
TPOX: 11
vWA: 16,18
D3S1358: 17
D21S11: 30.2,32.2
D18S51: 17
Penta E: 12,13,14
Penta D: 9,10
D8S1179: 11,14
FGA: 22

HLA-alleler

A*: '01:01:01
B*: '35:03:01
C*: '04:01:01
DRB1*: '01:01:01, '13:01:01
DQA1*: '01:01:01, '01:03:01
DQB1*: '05:01:01, '06:03:01
DPB1*: '04:01:01G, '06:01:01G
E: '01:01:01