

## CLS-54-celler | 300227

## Generell informasjon

<b>Description</b>	Etablert in vitro fra et primært lungekarsinom hos en 65 år gammel mann i 1998 ved hjelp av CLS.
<b>Organism</b>	Menneskelig
<b>Tissue</b>	Lunge
<b>Disease</b>	Adenokarsinom

## Kjennetegn

<b>Age</b>	65 år
<b>Gender</b>	Mann
<b>Ethnicity</b>	Kaukasisk
<b>Morphology</b>	Epitel-lignende
<b>Growth properties</b>	Vedhengende

## Regulatoriske data

<b>Citation</b>	CLS-54 (Cytion-katalognummer 300227)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_5728

## Biomolekylære data

<b>Tumorigenic</b>	Ja, i nakne mus
--------------------	-----------------

## Håndtering

## CLS-54-celler | 300227

<b>Culture Medium</b>	RPMI 1640, m: 2,0 mM stabil glutamin, m: 2,0 g/L NaHCO <sub>3</sub> (Cytion artikkelnummer 820700a)
<b>Supplements</b>	Suppler mediet med 10 % FBS
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Subculturing</b>	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, resuspend cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.
<b>Split ratio</b>	Et forhold på 1:2 til 1:6 anbefales
<b>Seeding density</b>	$1 \times 10^4$ celler/cm <sup>2</sup> vil gi et sammenvokst lag på omtrent 4 dager.
<b>Fluid renewal</b>	Hver 3. til 5. dag
<b>Post-Thaw Recovery</b>	Etter tining, plasser cellene på $5 \times 10^4$ celler/cm <sup>2</sup> og la cellene komme seg etter fryseprosessen og feste seg i minst 24 timer.
<b>Freeze medium</b>	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-54-celler | 300227

### 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 %  $\text{CO}_2$ , befuktet atmosfære.

### Flask Coating

For optimal feste og levedyktighet etter tining anbefaler vi å bruke **kollagenbelagte kolber eller plater**.

### 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-54-celler | 300227

### 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:** 12

**D13S317:** 11

**D16S539:** 12,13

**D5S818:** 13

**D7S820:** 10,11

**TH01:** 6,9,3

**TPOX:** 8,9

**vWA:** 14,17

**D3S1358:** 18

**D21S11:** 30,31.2

**D18S51:** 11,17,18

**Penta E:** 12,15

**Penta D:** 9

**D8S1179:** 11

**FGA:** 20

### HLA-alleler

**C\*:** '03:04:01, '04:01:01

**DRB1\*:** '04:02:01, '07:01:01

**DQA1\*:** '02:01:01, '03:01:01

**DQB1\*:** '02:02:01, '03:02:01

**DPB1\*:** '04:01:01, '11:01:01

**E:** '01:01:01, '01:03:01