

CLS-439-celler | 300150

Generell informasjon

Description	Etablert fra et primært blærekarsinom hos en 61 år gammel mann i 1998 ved hjelp av CLS.
Organism	Menneskelig
Tissue	Blære
Disease	Karsinom
Synonyms	CLS439

Kjennetegn

Age	61 år
Gender	Mann
Ethnicity	Kaukasisk
Morphology	Epitel-lignende
Growth properties	Vedhengende

Regulatoriske data

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

Biomolekylære data

Tumorigenic	Ja, i nakne mus
--------------------	-----------------

Håndtering

CLS-439-celler | 300150

Culture Medium	McCoy's 5a, m: 3,0 g/L glukose, m: stabil glutamin, m: 2,0 mM natriumpyruvat, m: 2,2 g/L NaHCO ₃ (Cytion artikkelnummer 820200a)
Supplements	Suppler mediet med 10 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	35 timer
Subculturing	Fjern mediet og skyll de adherente cellene med PBS uten kalsium og magnesium (3-5 ml PBS for T25, 5-10 ml for T75-cellekulturflasker). Tilsett TrypleExpress (1-2 ml per T25-cellekulturkolbe, 2,5 ml per T75-cellekulturkolbe), cellearket må være helt dekket. Inkuber ved omgivelsestemperatur i 10 minutter. Resuspender cellene forsiktig, tilsetning av medium er valgfritt, men ikke nødvendig, og fordel dem i nye kolber som inneholder friskt medium.
Split ratio	Et forhold på 1:4 til 1:8 anbefales
Seeding density	1×10^4 celler/cm ² vil resultere i et sammenflytende lag i løpet av omtrent 3 dager.
Fluid renewal	2 til 3 ganger per uke
Post-Thaw Recovery	Cellene må hvile i minst 24 timer etter opptining ved 37 grader Celsius/5 % CO ₂
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 osmoteskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoinduisert stress.

CLS-439-celler | 300150

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 cellepelleten 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-439-celler | 300150

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: 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-alleler

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