

PLC/PRF/5-celler | 300315

Generell informasjon

Description	Cellene produserer HBsAg. Det finnes foreløpig ingen bevis for at denne cellelinjen produserer smittsomt hepatitt B-virus.
Organism	Menneskelig
Disease	Hepatocellulært karsinom
Synonyms	PLC-PRF-5, PLC PRF 5, PLC/PRF5, PLCPRF5, PLC-8024, PLC8024, PLC, Alexander-celler, Alexander, Primary Liver Carcinoma/Poliomyelitis Research Foundation/5

Kjennetegn

Age	24 år
Gender	Mann
Ethnicity	Afrikansk
Cell type	Alexander-celler
Growth properties	Vedhengende

Regulatoriske data

Citation	PLC/PRF/5 (Cytion-katalognummer 300315)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0485

Biomolekylære data

Products	Overflateantigen mot hepatittvirus B (HBsAg)
Karyotype	Gjennomsnittlig antall: 56, heteroploid, med markørkromosomer

PLC/PRF/5-celler | 300315

Håndtering

Culture Medium DMEM, m: 4,5 g/L glukose, m: 4 mM L-glutamin, m: 3,7 g/L NaHCO₃, m: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikkelnummer 820300a)

Supplements Suppler mediet med 10 % FBS

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 35 til 40 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, resuspend cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.

Split ratio Et forhold på 1:4 anbefales

Seeding density 1×10^4 celler/cm²

Fluid renewal 2 ganger per uke

Post-Thaw Recovery Etter tining, plasser cellene på 5×10^4 celler/cm² 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 osmoteskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoindusert stress.

PLC/PRF/5-celler | 300315

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.

PLC/PRF/5-celler | 300315**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: 10
D13S317: 11,12
D16S539: 13
D5S818: 12
D7S820: 9,11
TH01: 7,8
TPOX: 8
vWA: 15,16
D3S1358: 15
D21S11: 30,33.2
D18S51: 17
Penta E: 10,16
Penta D: 6,1
D8S1179: 13,16
FGA: 19.2,25
D1S1656: 14
D6S1043: 13,21
D2S1338: 19
D12S391: 20
D19S433: 11,13

HLA-alleler

A*: '03:01:01, '33:03:01
B*: '42:02:01, '53:01:01
C*: '04:01, '17:XX
DRB1*: '08:04:01, '13:01:01
DQA1*: '01:03:01, '04:01:02
DQB1*: '03:19:01, '06:03:01
DPB1*: '04:XX, '18:01
E: '01:01, '01:03