Product sheet

Komórki CLS-439 | 300150

Informacje ogólne

Description	Wyhodowany z pierwotnego raka pęcherza moczowego u 61-letniego mężczyzny w 1998 roku metodą CLS.
Organism	Człowiek
Tissue	Pęcherz moczowy
Disease	Rak
Synonyms	CLS439

Charakterystyka

Age	61 lat
Gender	Mężczyzna
Ethnicity	Kaukaski
Morphology	Podobny do nabłonka
Growth properties	Adherent

Dane regulacyjne

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

Dane biomolekularne

Tumorigenic	Tak, u nagich myszy

Obsługa

Product sheet

Komórki CLS-439 | 300150

Culture Medium	McCoys 5a, w: 3,0 g/l glukozy, w: stabilna glutamina, w: 2,0 mM pirogronianu sodu, w: 2,2 g/l NaHCO3 (numer artykułu Cytion 820200a)
Supplements	Uzupełnić podłoże 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	35 godzin
Subculturing	Usunąć pożywkę i przepłukać przylegające komórki używając PBS bez wapnia i magnezu (3-5 ml PBS na kolbę T25, 5-10 ml na kolbę T75). Dodaj TrypleExpress (1-2 ml na kolbę T25, 2,5 ml na kolbę T75), arkusz komórek musi być całkowicie przykryty. Inkubować w temperaturze otoczenia przez 10 minut. Ostrożnie ponownie zawiesić komórki, dodanie pożywki jest opcjonalne, ale nie jest konieczne, i przenieść do nowych kolb zawierających świeżą pożywkę.
Split ratio	Zalecane są proporcje od 1:4 do 1:8
Seeding density	1 x 10^4 komórek/cm^2 spowoduje powstanie zlewającej się warstwy w ciągu około 3 dni.
Fluid renewal	2 do 3 razy w tygodniu
Post-Thaw Recovery	Komórki muszą odpoczywać przez co najmniej 24 godziny po rozmrożeniu w temperaturze 37 stopni Celsjusza/5%$_{CO2}$
Freeze medium	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Komórki CLS-439 | 300150

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.

2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C, aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.

3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.

4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowym, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.

5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.

6. Wirować mieszaninę z prędkością 300 x g przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.

7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.

8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki CLS-439 | 300150

Shipping Conditions	Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.
Storage Conditions	W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości i analiza molekularna

Sterility	Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji. Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.
Profil STR	**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
Allele HLA	**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