

Komórki TE-671 | 300355**Informacje ogólne**

Description Oryginalna linia komórkowa TE671 została zainicjowana przez hodowlę eksplantacyjną z fragmentów biopsji rdzenia mózgu. Szczep komórkowy został wyizolowany przez pobranie kilku wielowarstwowych okrągłych lub wielokątnych komórek, które były przeplatane monowarstwami komórek zrębu glejowego za pomocą pipet Pasteura. Tworzy kolonie na miękkim podłożu agarowym. Elementy neuronalne lub glejowe nie zostały zaobserwowane podczas badania mikroskopem elektronowym i nie wykryto wirusów. Komórki posiadają funkcjonalne nikotynowe receptory acetylocholino. Nie wykryto aktywności acetylotransferazy choliny ani hydroksylazy tyrozyny. Badania cytogenetyczne przeprowadzone przez Stratton i wsp. (1989) wykazały, że TE671 i RD są pochodnymi tej samej linii komórkowej pochodzenia mięsaka prążkowanokomórkowego.

Organism Człowiek

Tissue Mięśnie

Disease Mięsak prążkowanokomórkowy

Synonyms TE671, TE 671, TE671/RD

Charakterystyka

Age 7 lat

Gender Kobieta

Morphology Podobny do nabłonka

Growth properties Adherent

Dane regulacyjne

Citation TE-671 (numer katalogowy Cytion 300355)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_1756

Dane biomolekularne

Komórki TE-671 | 300355

Receptors expressed Receptor acetylocholinowy, receptor benzodiazepinowy typu obwodowego

Antigen expression Wimentyna+, desmina+, keratyna- (MNF-116)

Karyotype 2n=47, 42% ma 48 chromosomów

Obsługa

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/l glukozy, w: 4 mM L-glutaminy, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM pirogronianu sodu (numer artykułu Cytion 820300a)

Supplements Uzupełnić podłoże 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.

Split ratio Zalecany jest stosunek 1:3

Seeding density 1×10^4 kom^{órek}/cm²

Fluid renewal 2 do 3 razy w tygodniu

Post-Thaw Recovery Po rozmrożeniu umieść komórki na płycie w ilości 5×10^4 kom^{órek}/cm² i pozostaw je na co najmniej 24 godziny, aby mogły się zregenerować po procesie zamrażania i przylgnąć do podłoża.

Freeze medium Jako pożywki do kriokonserwacji używamy 50% pożywki podstawowej + 40% FBS + 10% DMSO lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Komórki TE-671 | 300355

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 przepływowej, 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 $300 \times g$ 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 zawieszonych, 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% CO_2 , 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 czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki TE-671 | 300355**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 fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

**Storage
Conditions**

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki 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 / Profil genetyczny / HLA**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,y
CSF1PO: 10,11
D13S317: 13
D16S539: 10,11
D5S818: 10,11
D7S820: 8,12
TH01: 9.3
TPOX: 9
vWA: 18
D3S1358: 15,17
D21S11: 28,29
D18S51: 13
Penta E: 12
Penta D: 11,13
D8S1179: 11,15
FGA: 20,21
PEZ6: SV-80