

Células CLS-439 | 300150**Informações gerais**

Description	Estabelecido a partir do carcinoma primário da bexiga de um homem de 61 anos de idade em 1998 por CLS.
Organism	Humano
Tissue	Bexiga
Disease	Carcinoma
Synonyms	CLS439

Caraterísticas

Age	61 anos
Gender	Masculino
Ethnicity	Caucasiano
Morphology	De tipo epitelial
Growth properties	Aderente

Dados regulamentares

Citation	CLS-439 (número de catálogo Cytion 300150)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_5982

Dados biomoleculares

Tumorigenic	Sim, em ratinhos nus
--------------------	----------------------

Manuseamento

Células CLS-439 | 300150

Culture Medium McCoys 5a, com: 3,0 g/L de glucose, com: glutamina estável, com: 2,0 mM de piruvato de sódio, com: 2,2 g/L de NaHCO₃ (número de artigo Cytion 820200a)

Supplements Completar o meio com 10% de FBS

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 35 horas

Subculturing Remover o meio e enxaguar as células aderentes utilizando PBS sem cálcio e magnésio (3-5 ml de PBS para T25, 5-10 ml para frascos de cultura de células T75). Adicionar TrypleExpress (1-2 ml por T25, 2,5 ml por frasco de cultura de células T75), devendo a folha de células ser completamente coberta. Incubar à temperatura ambiente durante 10 minutos. Ressuspender cuidadosamente as células, a adição de meio é opcional mas não necessária, e dispensar em novos frascos que contenham meio fresco.

Seeding density 1×10^4 células/cm² resultará numa camada confluenta em cerca de 3 dias

Fluid renewal 2 a 3 vezes por semana

Post-Thaw Recovery As células devem repousar durante um mínimo de 24 horas após a descongelação a 37 graus Celsius/5% CO₂

Freeze medium Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Células CLS-439 | 300150

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

Flask Coating

Nenhum

Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78°C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Células CLS-439 | 300150

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.

Alelos 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