Product sheet

HB-CLS-2-celler | 300191

Allmän information

Description	Etablerad som in vitro-cellinje från primärt blåscarcinom (grad III) hos en manlig patient.
Organism	Människan
Tissue	Blåsan
Disease	Carcinom
Synonyms	HBCLS2

Egenskaper

Age	50 år
Gender	Man
Ethnicity	Kaukasisk
Morphology	Epitelliknande
Growth properties	Följsam

Lagstadgade uppgifter

Citation	HB-CLS-2 (Cytion katalognummer 300191)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_6214

Biomolekylära data

Tumorigenic	Ja, i nakna möss

Hantering

HB-CLS-2-celler | 300191

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glukos, w: 2,5 mM L-glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natriumpyruvat, w: 1,2 g/L NaHCO3 (Cytion artikelnummer 820400a)
Supplements	Komplettera mediet med 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Ta bort det gamla mediet från de adherenta cellerna och tvätta dem med PBS som saknar kalcium och magnesium. Använd 3-5 ml PBS för T25-kolvar och 5-10 ml för T75-kolvar. Täck sedan cellerna helt med Accutase, använd 1-2 ml för T25-kolvar och 2,5 ml för T75-kolvar. Låt cellerna inkubera i rumstemperatur i 8-10 minuter så att de lossnar. Efter inkubationen, blanda cellerna försiktigt med 10 ml medium för att resuspendera dem och centrifugera sedan vid 300xg i 3 minuter. Kassera supernatanten, resuspendera cellerna i färskt medium och överför dem till nya kolvar som redan innehåller färskt medium.
Split ratio	Ett förhållande på 1:4 till 1:8 rekommenderas
Seeding density	1 x 10^4 celler/cm^2
Fluid renewal	2 till 3 gånger per vecka
Post-Thaw Recovery	Efter upptining, plattlägg cellerna med 5 x 10^4 celler/cm^2 och låt cellerna återhämta sig från frysprocessen och fästa i minst 24 timmar.
Freeze medium	Som kryokonserveringsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfryst vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under -150 °C för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett 37 °C vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeshuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid 300 x g i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkolvar; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, befuktad atmosfär.
Flask Coating	Ingen
Freezing Procedure	Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.
Shipping Conditions	Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

Storage Conditions	För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Kvalitetskontroll och molekylär analys

Sterility	Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik. För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.
STR-profil	**Amelogenin**: x,y **CSF1PO**: 7,10 **D13S317**: 11,12 **D16S539**: 12 **D5S818**: 10,12 **D7S820**: 8,9 **TH01**: 9 **TPOX**: 8,10 **vWA**: 15,18 **D3S1358**: 16 **D21S11**: 32.2,35.2 **D18S51**: 15,17 **D8S1179**: 13 **FGA**: 21,23 **D2S1338**: 17,18 **D19S433**: 12,15
HLA-alleler	**A***: '24:02:01, '32:01:01 **B***: '27:02:00, '55:01:01 **C***: '02:02:02, '03:03:01 **DRB1***: '08:01:01, '10:01:01 **DQA1***: '01:05:01, '04:01:01 **DQB1***: '04:02:01, '05:01:01 **DPB1***: '02:01:02, '03:01:01 **E**: '01:01, '01:03