Product sheet

Cellules CLS-439 | 300150

Renseignements généraux

Description	Établi en 1998 par CLS à partir d'un carcinome primitif de la vessie chez un homme de 61 ans.
Organism	Humain
Tissue	Vessie
Disease	Carcinome
Synonyms	CLS439

Caractéristiques

Age	61 ans
Gender	Homme
Ethnicity	caucasien
Morphology	De type épithélial
Growth properties	Adepte

Données réglementaires

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

Données biomoléculaires

Tumorigenic	Oui, chez les souris nues

Manipulation

Product sheet

Cellules CLS-439 | 300150

Culture Medium	McCoys 5a, w : 3,0 g/L de glucose, w : stable; glutamine, w : 2,0 mM de pyruvate de sodium, w : 2,2 g/L de $NaHCO_3$ (référence Cytion 820200a)
Supplements	Ajouter 10 % de FBS au milieu de culture
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	35 heures
Subculturing	Retirez le milieu et rincez les cellules adhérentes à l'aide de PBS sans calcium ni magnésium (3 à 5 ml de PBS pour les flacons de culture T25, 5 à 10 ml pour les flacons T75). Ajouter du TrypleExpress (1 à 2 ml par flacon de culture cellulaire T25, 2,5 ml par flacon T75); la couche cellulaire doit être entièrement recouverte. Incuber à température ambiante pendant 10 minutes. Remettre soigneusement les cellules en suspension; l'ajout de milieu est facultatif mais non nécessaire, puis les transférer dans de nouveaux flacons contenant du milieu frais.
Seeding density	Une densité de 1×10^4 cellules/cm^2 permettra d'obtenir une couche confluente en environ 3 jours
Fluid renewal	2 à 3 fois par semaine
Post-Thaw Recovery	Les cellules doivent reposer pendant au moins 24 heures après la décongélation à 37 degrés Celsius et 5 % de CO_2.
Freeze medium	Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (contenant du sérum fœtal bovin) + 10 % de DMSO pour assurer une viabilité adéquate après décongélation, ou du CM-1 (référence Cytion 800100), qui contient des osmoprotecteurs et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryoconservation.

Thawing and Culturing Cells

1. Assurez-vous que le flacon reste bien congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche afin de maintenir des températures optimales pendant le transport.

2. À la réception, conservez immédiatement le cryofiole à une température inférieure à -150 °C pour garantir la préservation de l'intégrité cellulaire, ou passez à l'étape 3 si une culture immédiate est nécessaire.

3. Pour une culture immédiate, décongelez rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37 °C contenant de l'eau propre et un agent antimicrobien, en agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit morceau de glace.

4. Effectuez toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux laminaire, en désinfectant le cryotube avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.

5. Ouvrez avec précaution le flacon désinfecté et transférez la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant délicatement.

6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules, puis jeter avec précaution le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.

7. Remettre délicatement le culot cellulaire en suspension dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension dans deux flacons de culture T25; pour les cultures en suspension, transférer la totalité du milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance cellulaires efficaces.

8. Respectez les protocoles de sous-culture établis pour assurer la croissance continue et le maintien de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % de CO_2, atmosphère humidifiée.

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées dans de la glace sèche, dans un emballage isotherme validé contenant suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ −78 °C pendant tout le transport. À la réception, inspectez immédiatement le conteneur et transférez sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placez les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre environ −150 et −196 °C. L'entreposage à −80 °C n'est acceptable qu'à titre d'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle de la qualité et analyse moléculaire

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes par luminescence.

Afin de s’assurer qu’il n’y a aucune contamination bactérienne, fongique ou par des levures, les cultures cellulaires font l’objet d’inspections visuelles quotidiennes.