

## CLS-439 šūnas | 300150

## Vispārīga informācija

<b>Description</b>	Izveidots no primārās urīnpūšļa karcinomas 61 gadu vecam vīrietim 1998. gadā, izmantojot CLS.
<b>Organism</b>	Cilvēks
<b>Tissue</b>	Pūslis
<b>Disease</b>	Karcinoma
<b>Synonyms</b>	CLS439

## Raksturojums

<b>Age</b>	61 gads
<b>Gender</b>	Vīrieši
<b>Ethnicity</b>	Kaukāzietis
<b>Morphology</b>	Epitēlijveidīgs
<b>Growth properties</b>	Adherent

## Normatīvie dati

<b>Citation</b>	CLS-439 (Cytion kataloga numurs 300150)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_5982

## Biomolekulārie dati

<b>Tumorigenic</b>	Jā, kailām pelēm
--------------------	------------------

## Darbs ar

## CLS-439 šūnas | 300150

**Culture Medium** McCoys 5a, w: 3,0 g/l glikoze, w: stabils glutamīns, w: 2,0 mM nātrija piruvāts, w: 2,2 g/l NaHCO<sub>3</sub> (Cytion izstrādājuma numurs 820200a)

**Supplements** Papildināt barotni ar 10% FBS

**Dissociation Reagent** Accutase

**Doubling time** 35 stundas

**Subculturing** Noņemiet barotni un izskalojiet pielipušās šūnas, izmantojot PBS bez kalcija un magnija (3-5 ml PBS T25, 5-10 ml T75 šūnu kultūru kolbām). Pievienojiet TrypleExpress (1-2 ml uz T25, 2,5 ml uz T75 šūnu kultūru kolbu), šūnu sloksnei jābūt pilnībā pārklātai. Inkubēt 10 minūtes istabas temperatūrā. Uzmanīgi resuspendējiet šūnas, barotnes pievienošana nav obligāta, bet nav nepieciešama, un iepildiet jaunās kolbās, kurās ir svaiga barotne.

**Seeding density**  $1 \times 10^4$  šūnas/cm<sup>2</sup> veidos konfluentu slāni apmēram 3 dienu laikā.

**Fluid renewal** 2 līdz 3 reizes nedēļā

**Post-Thaw Recovery** Šūnām pēc atkausēšanas vismaz 24 stundas jāatpūšas 37 °C temperatūrā/5% CO<sub>2</sub>

**Freeze medium** Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

## CLS-439 šūnas | 300150

### Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

### Incubation Atmosphere

37°C, 5%  $\text{CO}_2$ , mitrināta atmosfēra.

### Flask Coating

Neviens

### Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

## CLS-439 šūnas | 300150

### Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

### Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

## Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

### Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.

### HLA alēles

**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