

**Komórki HT-1376 | 305100****Informacje ogólne****Description**

Linia komórkowa HT-1376 pochodzi z ludzkiego raka pęcherza moczowego, w szczególności raka przejściowokomórkowego 3. stopnia. Ta linia komórkowa została utworzona z guza uzyskanego w wyniku przeciewkowej resekcji u dorosłej pacjentki, u której w przeszłości występował inwazyjny rak pęcherza moczowego. Komórki HT-1376 wykazują cechy nabłonkowe, w tym obecność mikrokosmków i tonofibryli, które wskazują na ich nabłonkowe pochodzenie. Dodatkowo, komórki te wykazują kilka chromosomów markerowych, które odróżniają je od innych znanych linii komórek nowotworowych. Wiadomo również, że komórki HT-1376 rosną w miękkim agarze i są wysoce nowotworowe, tworząc guzy po wstrzyknięciu myszom i chomikom z obniżoną odpornością.

HT-1376 ma istotne znaczenie w badaniach nad rakiem pęcherza moczowego ze względu na swój profil genetyczny, w tym znaczące zmiany w regionie chromosomalnym 9p21. Region ten często ulega dużym homozygotycznym delecjom, co prowadzi do inaktywacji krytycznych genów supresorowych nowotworów, takich jak CDKN2, CDKN2B i MTAP. Delecje te są powszechne w raku pęcherza moczowego i mają kluczowe znaczenie dla zrozumienia mechanizmów molekularnych leżących u podstaw nowotworzenia. Na przykład, utrata CDKN2 i CDKN2B jest związana z rozregulowaniem cyklu komórkowego, co jest kluczowym wydarzeniem w progresji raka. Co więcej, komórki HT-1376 były badane pod kątem ekspresji białka p16, produktu genu CDKN2, co jest często skorelowane z brakiem ekspresji białka pRb, innego białka supresorowego nowotworu.

Linia komórkowa HT-1376 była również wykorzystywana w badaniach wirusologicznych do oceny obecności wirusów nowotworowych, chociaż w komórkach tych nie wykryto ekspresji wirusów. Sprawia to, że HT-1376 jest cennym modelem do badania niewirusowych mechanizmów rozwoju i progresji raka pęcherza moczowego. Zmiany genetyczne linii komórkowej i jej zdolność do wzrostu in vitro i in vivo stanowią solidną platformę do badań przedklinicznych, w tym testowania leków i badania nowych strategii terapeutycznych ukierunkowanych na określone szlaki genetyczne w raku pęcherza moczowego.

**Organism** Człowiek**Tissue** Pęcherz moczowy**Disease** Rak pęcherza moczowego**Synonyms** HT1376, HT 1376, HT 1376.T**Charakterystyka****Age** 58 lat**Gender** Kobieta**Ethnicity** Europejski**Morphology** Nabłonek

**Komórki HT-1376 | 305100****Growth properties** Adherent**Dane regulacyjne****Citation** HT-1376 (numer katalogowy Cytion 305100)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_1292**Dane biomolekularne****Protein expression** Aktywność fibrynolityczna, interferon**Tumorigenic** Tak**Obsługa****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-glutamina, w: 2,2 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: EBSS (numer artykułu Cytion 820100a)**Supplements** Uzupelnic podloze 10% FBS i 1% NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 31 godzin**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** 1:2 do 1:6**Fluid renewal** 2 do 3 razy w tygodniu

## Komórki HT-1376 | 305100

### Freeze medium

Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

### Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej  $-150^{\circ}\text{C}$ , 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  $37^{\circ}\text{C}$  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 próbówki 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 zawiesinowych, 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

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , nawilżona atmosfera.

### Flask Coating

Brak

## Komórki HT-1376 | 305100

### Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około  $-78^{\circ}\text{C}$  przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

### Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około  $-78^{\circ}\text{C}$  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  $-196^{\circ}\text{C}$ . Przechowywanie w temperaturze  $-80^{\circ}\text{C}$  jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

## Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

### Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczone 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.