

Komórki CLS-CD-3575 | 400146**Informacje ogólne****Description**

CLS-CD-3575 to ludzka linia komórek nowotworowych włączona do wyselekcjonowanych kolekcji linii komórkowych przeznaczonych do badań onkologicznych. Pochodzi z guza łitego pochodzenia nabłonkowego pobranego od dorosłego pacjenta i została przystosowana do ciągłej hodowli in vitro. Komórki rosną w standardowych warunkach hodowli i wykazują morfologię zgodną z tkanką pochodzenia, tworząc monowarstwy o cechach nabłonkowych. Podobnie jak wiele innych ustalonych linii komórek nowotworowych, CLS-CD-3575 wykazuje stabilną proliferację i nadaje się do rutynowego pasażowania.

Pod względem molekularnym CLS-CD-3575 wykazuje zmiany genomowe typowe dla nowotworów złośliwych nabłonkowych, w tym zaburzenia równowagi chromosomowej i rozregulowane szlaki sygnałowe związane z proliferacją i przeżywalnością. W zależności od konkretnego pochodzenia nowotworu można wykryć ekspresję cytokeratin związanych z linią komórkową i markerów związanych z nowotworem. Cechy te sprawiają, że linia ta nadaje się do badań nad sygnalizacją onkogeną, regulacją cyklu komórkowego, apoptozą i profilowaniem odpowiedzi na leki in vitro.

CLS-CD-3575 jest wykorzystywana w warunkach eksperymentalnych, w tym w badaniach cytotoksyczności, analizie szlaków molekularnych i ocenie ukierunkowanych strategii terapeutycznych. Jej powtarzalne właściwości wzrostowe i kompatybilność ze standardowymi technikami biochemicznymi, biologii molekularnej i obrazowania sprawiają, że jest ona praktycznym modelem do badań mechanistycznych nad rakiem i przedklinicznego badania związków chemicznych.

Organism Mysz**Tissue** Nerka**Disease** Rak**Synonyms** CLS-CD3575**Charakterystyka****Age** Nieokreślony**Gender** Nieokreślony**Growth properties** Adherent**Dane regulacyjne****Citation** CLS-CD-3575 (numer katalogowy Cytion 400146)

Komórki CLS-CD-3575 | 400146**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_5730**Dane biomolekularne****Tumorigenic** Tak, u myszy syngenicznych**Obsługa****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukozy, w: 4 mM L-glutaminy, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM pirogronianu sodu (numer artykułu Cytion 820300a)**Supplements** Uzpełnić podłoże 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Usun 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** Zalecane są proporcje od 1:4 do 1:8**Seeding density** 2 do 3 x 10⁴ /cm²**Fluid renewal** 2 do 3 razy w tygodniu**Post-Thaw Recovery** Po rozmrożeniu umieść komórki na płytce w ilości 5 x 10⁴ komórek/cm² i pozostaw je na co najmniej 24 godziny, aby mogły się zregenerować po procesie zamrażania i przyłączyć do podłoża.**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.

Komórki CLS-CD-3575 | 400146**Thawing and
Culturing Cells**

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°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°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 probówki 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 zawieszonych, 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°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

**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°C przez czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki CLS-CD-3575 | 400146

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°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 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °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.

Profil STR

M_18-3: 17
M_4-2: 21.3
M_6-7: 12
M_3-2: 14
M_19-2: 13
M_7-1: 25.2
M_1-1: 14
M_Sex: x
M_8-1: 13
M_2-1: 16
M_15-3: 22.3
M_6-4: 17
M_11-2: 16,18
M_1-2: 17,20
M_17-2: 15
M_12-1: 16
M_5-5: 14
M_X-1: 24
M_13-1: 16.2
Human D4/D8: -