

**Komórki CLS-439 | 300150****Informacje ogólne**

<b>Description</b>	Wyhodowany z pierwotnego raka pęcherza moczowego u 61-letniego mężczyzny w 1998 roku metodą CLS.
<b>Organism</b>	Człowiek
<b>Tissue</b>	Pęcherz moczowy
<b>Disease</b>	Rak
<b>Synonyms</b>	CLS439

**Charakterystyka**

<b>Age</b>	61 lat
<b>Gender</b>	Mężczyzna
<b>Ethnicity</b>	Kaukaski
<b>Morphology</b>	Podobny do nabłonka
<b>Growth properties</b>	Adherent

**Dane regulacyjne**

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

**Dane biomolekularne**

<b>Tumorigenic</b>	Tak, u nagich myszy
--------------------	---------------------

**Obsługa**

**Komórki CLS-439 | 300150**

**Culture Medium** McCoys 5a, w: 3,0 g/l glukozy, w: stabilna glutamina, w: 2,0 mM pirogronianu sodu, w: 2,2 g/l NaHCO<sub>3</sub> (numer artykułu Cytion 820200a)

**Supplements** Uzuppełnić podłoże 10% FBS

**Dissociation Reagent** Accutase

**Doubling time** 35 godzin

**Subculturing** Usunąć pożywkę i przepłukać przylegające komórki używając PBS bez wapnia i magnezu (3-5 ml PBS na kolbę T25, 5-10 ml na kolbę T75). Dodaj TrypleExpress (1-2 ml na kolbę T25, 2,5 ml na kolbę T75), arkusz komórek musi być całkowicie przykryty. Inkubować w temperaturze otoczenia przez 10 minut. Ostrożnie ponownie zawiesić komórki, dodanie pożywki jest opcjonalne, ale nie jest konieczne, i przenieść do nowych kolb zawierających świeżą pożywkę.

**Split ratio** Zalecane są proporcje od 1:4 do 1:8

**Seeding density**  $1 \times 10^4$  komórek/cm<sup>2</sup> spowoduje powstanie zlewającej się warstwy w ciągu około 3 dni.

**Fluid renewal** 2 do 3 razy w tygodniu

**Post-Thaw Recovery** Komórki muszą odpoczywać przez co najmniej 24 godziny po rozmrożeniu w temperaturze 37 stopni Celsjusza/5%<sub>CO2</sub>

**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-439 | 300150

### 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  $-150^{\circ}\text{C}$ , 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 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

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

### Flask Coating

W celu zapewnienia optymalnego przylegania i żywotności po rozmrożeniu zalecamy stosowanie **kolb lub płytek pokrytych kolagenem**.

### 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 fiolkę do odpowiedniego miejsca przechowywania.

**Komórki CLS-439 | 300150****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**

**Amelogenin:** x,x  
**CSF1PO:** 12  
**D13S317:** 11  
**D16S539:** 10,13  
**D5S818:** 11  
**D7S820:** 10,11  
**TH01:** 7  
**TPOX:** 9,10  
**vWA:** 17  
**D3S1358:** 16  
**D21S11:** 29,31  
**D18S51:** 14  
**Penta E:** 12,16  
**Penta D:** 9,12  
**D8S1179:** 11,13  
**FGA:** 20

**Allele HLA**

**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