

## Клетки RCC-FG1 | 300248

## Обща информация

<b>Description</b>	Установен от светлоклетъчен карцином на бъбрека pT2a, M1/GII на 69-годишен мъж през 1999 г., PAS положителен. Клетките показват висока експресия на гликопротеин P-170.
<b>Organism</b>	Човек
<b>Tissue</b>	Бъбреци
<b>Disease</b>	Светлоклетъчен бъбречноклетъчен карцином, pT2a, M1/ GII
<b>Synonyms</b>	KTCTL-26, KTCTL26, RCCFG1

## Характеристики

<b>Age</b>	69 години
<b>Gender</b>	Мъжки
<b>Ethnicity</b>	Кавказки
<b>Morphology</b>	Подобни на епител
<b>Growth properties</b>	Монослой, прилепнал

## Регулаторни данни

<b>Citation</b>	RCC-FG1 (каталожен номер 300248 на Cytion)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_5872

## Биомолекулярни данни

<b>Surface antigens</b>	Положителен цитокератин 8,18,19, положителен виментин
-------------------------	---

## Клетки RCC-FG1 | 300248

**Receptors expressed** HLA-A2 отрицателен

**Protein expression** IL8

**Tumorigenic** При голи мишки

**Mutational profile** IL8 RS1126647 3-UTR SNP A>T

## Работа с

**Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM стабилен глутамин, w: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (номер на статията в Cytion 820700a)

**Supplements** Допълнете средата с 10% FBS

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирайте, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.

**Split ratio** Препоръчва се съотношение от 1:2 до 1:3

**Seeding density**  $1 \times 10^4$  клетки/cm<sup>2</sup>

**Fluid renewal** 1 до 2 пъти седмично

**Post-Thaw Recovery** След размразяване, разположете клетките на  $5 \times 10^4$  клетки/cm<sup>2</sup> и оставете клетките да се възстановят от процеса на замразяване и да се прикрепят за поне 48 часа.

**Freeze medium** Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

## Клетки RCC-FG1 | 300248

**Thawing and  
Culturing Cells**

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикуробен агент с температура  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при  $300 \times g$  в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

**Incubation  
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , овлажнена атмосфера.

**Flask Coating**

Няма

**Freezing  
Procedure**

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

## Клетки RCC-FG1 | 300248

**Shipping  
Conditions**

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

**Storage  
Conditions**

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

**Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA****Sterility**

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.

**Профил на  
STR**

**Amelogenin:** x, y  
**CSF1PO:** 11  
**D13S317:** 11,12  
**D16S539:** 11,13  
**D5S818:** 10, 11, 12  
**D7S820:** 10, 11, 12  
**TH01:** 9  
**TPOX:** 8,11  
**vWA:** 18,19  
**D3S1358:** 16  
**D21S11:** 29,3  
**D18S51:** 14,17  
**Penta E:** 12,17  
**Penta D:** 9, 13, 18  
**D8S1179:** 12, 13, 15  
**FGA:** 19,23

**HLA алели**

**A\*:** '03:01:01, '32:01:01  
**B\*:** '27:05:02, '35:01:01  
**C\*:** '02:02:02, '04:01:01  
**DRB1\*:** '01:01:01, '15:01:01G  
**DQA1\*:** '01:01:01, '01:02:01  
**DQB1\*:** '05:01:01, '06:02:01  
**DPB1\*:** '04:01:01  
**E:** '01:01:01, '01:06:01