

Buňky RCC-MF | 300245

Obecné informace

Description	Stanoveno na základě světlobuněčného karcinomu ledviny pT2, N1, Mx/ GII-III (plicní metastáza) 63letého muže Pomerem a kol. v roce 1997. Buňky jsou G250 pozitivní.
Organism	Člověk
Tissue	Ledviny
Disease	Světlobuněčný karcinom ledviny, pT2, N1, Mx/ GII-III (plíce - metastázy)
Synonyms	KTCTL-1M, KTCTL1M, RCCMF

Charakteristika

Age	63 let
Gender	Muži
Ethnicity	Kavkazský
Morphology	Epitelu podobné
Growth properties	Monovrstva, adherentní

Regulační údaje

Citation	RCC-MF (katalogové číslo Cytion 300245)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_5884
Depositor	Prof. S. Pomer

Biomolekulární data

Buňky RCC-MF | 300245

Surface antigens	Cytokeratin pozitivní 8,18,19, vimentin pozitivní
Receptors expressed	CAI _x +
Protein expression	P53 pozitivní, G250 pozitivní, IL8
Tumorigenic	Ano, u nahých myší
Mutational profile	IL8 RS1126647 3-UTR SNP T>T

Zpracování

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilní glutamin, w: 2,0 g/l NaHCO ₃ (číslo výrobku Cytion 820700a)
Supplements	Doplňte médium o 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.
Split ratio	Doporučuje se poměr 1:2 až 1:3
Seeding density	2 až 3 x 10 ⁴ buněk/cm ²
Fluid renewal	1 až 2krát týdně
Freeze medium	Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Buňky RCC-MF | 300245

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstřeďte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žádný

Freezing Procedure

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Buňky RCC-MF | 300245

**Storage
Conditions**

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality a molekulární analýza**Sterility**

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuální kontrolám.

Profil STR

Amelogenin: x,x

CSF1PO: 10

D13S317: 11,14

D16S539: 13

D5S818: 11,12

D7S820: 9,1

TH01: 6

TPOX: 8,11

vWA: 18

D3S1358: 17

D21S11: 29,3

D18S51: 13,15

Penta E: 7,12

Penta D: 12,16

D8S1179: 10,14

FGA: 20

Alely HLA

A*: '01:01:01, '15:39

B*: '08:01:01, '15:01:01

C*: '03:03:01, '07:01:01

DRB1*: '03:01:01, '13:01:01

DQA1*: '01:03:01, '05:01:01

DQB1*: '02:01:01, '06:03:01

DPB1*: '04:01:01

E: '01:01:01