

## RCC-FG2 rakud | 300249

## Üldine teave

<b>Description</b>	Kehtestatud 77-aastase mehe neerukelmekartsinoomist, pT2a, Nx, M1/ GII, pT2a, Nx, M1/ GII. HLA-A2-positiivne, PAS-positiivne, G250-positiivne.
<b>Organism</b>	Inimene
<b>Tissue</b>	Neerud
<b>Disease</b>	Selge rakuline neerukartsinoom, pT2a, Nx, M1/GII
<b>Synonyms</b>	KTCTL-26A, KTCTL-26a, KTCTL26A, RCCFG2

## Omadused

<b>Age</b>	77 aastat
<b>Gender</b>	Mees
<b>Ethnicity</b>	Kaukaasia
<b>Morphology</b>	Epiteelilaadsed
<b>Growth properties</b>	Monokihiline, kleepuv

## Regulatiivsed andmed

<b>Citation</b>	RCC-FG2 (Cytioni katalooginumbr 300249)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_5873

## Biomolekulaarsed andmed

<b>Surface antigens</b>	Tsütokeratiin positiivne 8,18,19, vimentiin positiivne
-------------------------	--

## RCC-FG2 rakud | 300249

**Receptors expressed** CALx +/-, kaks piiki FACS-analüüsis, MAB2188.

**Protein expression** IL8

**Tumorigenic** Alasti hiirtel

**Ploidy status** Aneuploidne

**MSI-status** Ebastabiilne (MSI madal)

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

**Karyotype** 47,x,-Y,del(2)(p21),del(3)(p14),t(3,13)(p23,q32),+5,+7,der(9)t(5,9)(:q15->q33::p22),+16,-21,-22 (Högemann, 1994)

## Töötlemine

**Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (Cytioni artikli number 820700a)

**Supplements** Täiendada söötme 10% FBS-ga

**Dissociation Reagent** Accutase

**Doubling time** 24 kuni 48 tundi

**Subculturing** Eemaldage kleepunud rakkudelt vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifugeerige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.

**Split ratio** Soovitav on suhe 1:2 kuni 1:3

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

**Fluid renewal** 1 kuni 2 korda nädalas

## RCC-FG2 rakud | 300249

**Freeze medium**

Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , et tagada rakkude tervikluse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja kohe kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vial kiiresti, kastes selle  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud vial ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärseid katsetulemusi.

**Incubation Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , niisutatud atmosfäär.

**Flask Coating**

Puudub

**Freezing Procedure**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**RCC-FG2 rakud | 300249****Shipping  
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Storage  
Conditions**

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

**Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA****Sterility**

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminescentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.

**STR-profiil**

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

**HLA alleles**

**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