

RCC-GH rakud | 300252

Üldine teave

Description	Kehtestatud neerukartsinoomi koest.
Organism	Inimene
Tissue	Neerud
Disease	Selge rakuline neerurakk-kartsinoom

Omadused

Age	63 aastat
Gender	Mees
Ethnicity	Kaukaasia
Morphology	Epiteelilaadsed
Growth properties	Monokihiline, kleepuv

Regulatiivsed andmed

Citation	RCC-GH (Cytioni katalooginumber 300252)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_5874

Biomolekulaarsed andmed

Protein expression	IL8
Mutational profile	IL8 RS1126647 3-UTR SNP A>T

RCC-GH rakud | 300252

Töötlemine

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytioni artikli number 820700a)
Supplements	Täiendada söötme 10% FBS-ga
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Eemaldage kleepunud rakkudel 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	1×10^4 rakku/cm ²
Fluid renewal	1 kuni 2 korda nädalas
Post-Thaw Recovery	Pärast sulatamist asetage rakud plaadile tihedusega 5×10^4 rakku/cm ² ja laske rakkudel külmutamisprotsessist taastuda ja kinnituda vähemalt 48 tunni jooksul.
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.

RCC-GH rakud | 300252

**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 terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali 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 viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ 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 usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% 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.

**Shipping
Conditions**

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-GH rakud | 300252

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 luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

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

STR-profiil

Amelogenin: x,x
CSF1PO: 12,13
D13S317: 12,14
D16S539: 8, 10, 12
D5S818: 11,12
D7S820: 9, 10, 11
TH01: 6,9,9.3
TPOX: 8,11
vWA: 17, 18, 19
D3S1358: 13,16
D21S11: 28, 29, 30
D18S51: 12, 17, 18, 23
Penta E: 5, 7, 10, 12
Penta D: 9, 11, 12
D8S1179: 12, 13, 15
FGA: 21, 22, 24, 26
PEZ6: HuT-78