

## RCC-MF rakud | 300245

## Üldine teave

<b>Description</b>	Pomer et al. poolt 1997. aastal 63-aastase mehe neerukelmekartsinoomi pT2, N1, Mx/ GII-III (kopsu metastaas) alusel kindlaks tehtud. Rakud on G250-positiivsed.
<b>Organism</b>	Inimene
<b>Tissue</b>	Neerud
<b>Disease</b>	Selge rakuline neerukartsinoom, pT2, N1, Mx/ GII-III (kopsumetastaasid)
<b>Synonyms</b>	KTCTL-1M, KTCTL1M, RCCMF

## Omadused

<b>Age</b>	63 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-MF (Cytioni katalooginumber 300245)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_5884

## Biomolekulaarsed andmed

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

## RCC-MF rakud | 300245

**Receptors expressed** CAI<sub>x</sub>+**Protein expression** P53 positiivne, G250 positiivne, IL8**Tumorigenic** Jah, alasti hiirtel**Mutational profile** IL8 RS1126647 3-UTR SNP T>T

## 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**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** 2 kuni  $3 \times 10^4$  rakku/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal** 1 kuni 2 korda nädalas**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-MF rakud | 300245

**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%  $\text{CO}_2$ , 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.

**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-MF rakud | 300245

### 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:** 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

### HLA alleles

**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