

Cellules RCC-MF | 300245

Informations générales

Description	Établi à partir du carcinome rénal à cellules claires pT2, N1, Mx/ GII-III (métastase pulmonaire) d'un homme de 63 ans par Pomer et al. en 1997. Les cellules sont G250 positives.
Organism	Humain
Tissue	Rein
Disease	Carcinome rénal à cellules claires, pT2, N1, Mx/ GII-III (métastase pulmonaire)
Synonyms	KTCTL-1M, KTCTL1M, RCCMF

Caractéristiques

Age	63 ans
Gender	Homme
Ethnicity	Caucasien
Morphology	De type épithélial
Growth properties	Monocouche, adhérente

Données réglementaires

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

Données biomoléculaires

Cellules RCC-MF | 300245

Surface antigens	Cytokératine positive 8,18,19, vimentine positive
-------------------------	---

Receptors expressed	CAIx+
----------------------------	-------

Protein expression	P53 positif, G250 positif, IL8
---------------------------	--------------------------------

Tumorigenic	Oui, sur des souris nues
--------------------	--------------------------

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

Manipulation

Culture Medium	RPMI 1640, w : 2.0 mM Glutamine stable, w : 2.0 g/L NaHCO ₃ (numéro d'article Cytion 820700a)
-----------------------	--

Supplements	Compléter le milieu avec 10% de FBS
--------------------	-------------------------------------

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

Subculturing	Retirer l'ancien milieu des cellules adhérentes et les laver avec du PBS dépourvu de calcium et de magnésium. Pour les flacons T25, utiliser 3-5 ml de PBS, et pour les flacons T75, 5-10 ml. Ensuite, recouvrir complètement les cellules avec Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laisser les cellules incuber à température ambiante pendant 8-10 minutes pour les détacher. Après incubation, mélanger délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifuger à 300xg pendant 3 minutes. Jeter le surnageant, remettre les cellules en suspension dans du milieu frais et les transférer dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.
---------------------	--

Split ratio	Un rapport de 1:2 à 1:3 est recommandé
--------------------	--

Seeding density	2 à 3 x 10 ⁴ cellules/cm ²
------------------------	--

Fluid renewal	1 à 2 fois par semaine
----------------------	------------------------

Freeze medium	Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (comprenant du FBS) + 10 % de DMSO pour une viabilité adéquate après décongélation, ou CM-1 (numéro de catalogue 800100 de Cytion), qui comprend des osmoprotectants et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryogénisation.
----------------------	--

Cellules RCC-MF | 300245

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.
4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules et jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre doucement en suspension le culot cellulaire dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension entre deux flacons de culture T25 ; pour les cultures en suspension, transférer tout le milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance efficaces des cellules.
8. Respecter les protocoles de sous-culture établis pour une croissance et un entretien continus de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosphère humidifiée.

Flask Coating

Aucun

Freezing Procedure

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Cellules RCC-MF | 300245**Shipping
Conditions**

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

**Storage
Conditions**

Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle qualité et analyse moléculaire**Sterility**

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes basées sur la luminescence.

Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.

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

Allèles 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