

RCC-FG2 sejtek | 300249

Általános információk

Description	Egy 77 éves férfi, pT2a, Nx, M1/ GII, 77 éves, tiszta sejtes vese karcinómájából alakult ki. HLA-A2 pozitív, PAS pozitív, G250 pozitív.
Organism	Emberi
Tissue	Vese
Disease	Clear cell vesesejtes karcinóma, pT2a, Nx, M1/GII
Synonyms	KTCTL-26A, KTCTL-26a, KTCTL26A, RCCFG2

Jellemzők

Age	77 év
Gender	Férfi
Ethnicity	Kaukázusi
Morphology	Epithelszerű
Growth properties	Monoréteg, tapadó

Szabályozási adatok

Citation	RCC-FG2 (Cytion katalógusszám: 300249)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_5873

Biomolekuláris adatok

Surface antigens	Cytokeratin pozitív 8,18,19, vimentin pozitív
-------------------------	---

RCC-FG2 sejtek | 300249

Receptors expressed CALx +/-, két csúcs a FACS-elemzésben, MAB2188.

Protein expression IL8

Tumorigenic Meztelen egerekben

Ploidy status Aneuploid

MSI-status Instabil (MSI alacsony)

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)

A kezelése

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabil glutamin, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion 820700a cikkszám)

Supplements A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 24-48 óra

Subculturing Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.

Split ratio 1:2 és 1:3 közötti arány ajánlott

Seeding density 2×10^4 sejt/cm²

RCC-FG2 sejtek | 300249

Fluid renewal hetente 1-2 alkalommal

Freeze medium

Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a krioümlékét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtszuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejt kölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejtvonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

Nincs

RCC-FG2 sejtek | 300249**Freezing Procedure**

A kriokonzervált sejtvonalkat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejtvonalkat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA**Sterility**

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.

STR profil

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

RCC-FG2 sejtek | 300249

HLA allélok

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