

RCC-MF šūnas | 300245

Vispārīga informācija

Description	Izveidots no nieru gaiššūnu karcinomas pT2, N1, Mx/ GII-III (plaušu metastāzes) 63 gadus vecam vīrietim, ko Pomer et al. 1997. gadā. Šūnas ir G250 pozitīvas.
Organism	Cilvēks
Tissue	Nieres
Disease	Gaiššūnu nieru šūnu karcinoma, pT2, N1, Mx/ GII-III (plaušas - metastāzes)
Synonyms	KTCTL-1M, KTCTL1M, RCCMF

Raksturojums

Age	63 gadi
Gender	Vīrieši
Ethnicity	Kaukāzietis
Morphology	Epitēlijveidīgs
Growth properties	Vienslāņa, adhēzija

Normatīvie dati

Citation	RCC-MF (Cytion kataloga numurs 300245)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_5884

Biomolekulārie dati

Surface antigens	Pozitīvs citokeratīns 8,18,19, pozitīvs vimentīns
-------------------------	---

RCC-MF šūnas | 300245

Receptors expressed CAI_x+**Protein expression** P53 pozitīvs, G250 pozitīvs, IL8 pozitīvs**Tumorigenic** Jā, kailām pelēm**Mutational profile** IL8 RS1126647 3-UTR SNP T>T

Darbs ar

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820700a)**Supplements** Papildināt barotni ar 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.**Split ratio** Ieteicamā attiecība ir no 1:2 līdz 1:3**Seeding density** 2 līdz 3×10^4 šūnas/cm²**Fluid renewal** 1 līdz 2 reizes nedēļā**Freeze medium** Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

RCC-MF šūnas | 300245

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Neviens

**Freezing
Procedure**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

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

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA**Sterility**

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.

STR profils

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 alēles

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