

## RT-112 šūnas | 300324

## Vispārīga informācija

<b>Description</b>	Šo šūnu līniju izveidoja Dr. Kerola Rigbija (Dr. Carol Rigby, St. Paul's Hospital, Londona), kā 1976. gadā aprakstīja Benhems un citi, izmantojot cilvēka urīnpūšļa karcinomu.
<b>Organism</b>	Cilvēks
<b>Tissue</b>	Pūslis
<b>Disease</b>	Karcinoma
<b>Synonyms</b>	RT 112, RT112

## Raksturojums

<b>Age</b>	Nav norādīts
<b>Gender</b>	Sievietes
<b>Ethnicity</b>	Kaukāzietis
<b>Morphology</b>	Epitēlijveidīgs
<b>Growth properties</b>	Adherent

## Normatīvie dati

<b>Citation</b>	RT-112 (Cytion kataloga numurs 300324)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_1670

## Biomolekulārie dati

<b>Protein expression</b>	P53 pozitīvs, citokeratīns (4),5,(6), 7, 8, 13, 17, 18, 19, desmoplakīns
---------------------------	--

## RT-112 šūnas | 300324

**Isoenzymes** Jā, kailām pelēm

**MSI-status** Stabils (MSS)

**Darbs ar**

**Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (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** A ratio of 1:4 to 1:8 is recommended

**Seeding density** Sāciet kultivēšanu ar 2 līdz  $3 \times 10^4$  šūnām/cm<sup>2</sup> un turpiniet ar sēšanas blīvumu  $1 \times 10^4$  šūnas/cm<sup>2</sup>.

**Fluid renewal** 2 līdz 3 reizes nedēļā

**Post-Thaw Recovery** Aptuveni 50 % dzīvotspējīgu šūnu, kas atjaunojas 24-48 stundu laikā

**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.

## RT-112 šūnas | 300324

### 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<sub>2</sub>, mitrināta atmosfēra.

### Flask Coating

Optimālai piestiprināšanai un dzīvotspējai pēc atkausēšanas ieteicams izmantot **ar kolagēnu pārklātas kolbas vai plates**.

### 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.

## RT-112 šūnas | 300324

**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 pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.

**STR profils**

**Amelogenin:** x,y  
**CSF1PO:** 10,11  
**D13S317:** 13,14  
**D16S539:** 11,13  
**D5S818:** 10,13  
**D7S820:** 12,11  
**TH01:** 7  
**TPOX:** 8,11  
**vWA:** 14,17  
**D3S1358:** 15  
**D21S11:** 27,3  
**D18S51:** 15  
**Penta E:** 12,16  
**Penta D:** 10,11  
**D8S1179:** 13,15  
**FGA:** 23

**HLA alēles**

**A\*:** '26:01:01  
**B\*:** '27:05:02  
**C\*:** '01:02:01  
**DRB1\*:** '01:01:01  
**DQA1\*:** '01:01:01  
**DQB1\*:** '05:01:01  
**DPB1\*:** '01:01:01  
**E:** '01:01:01