Product sheet

RCC-MF-cellen | 300245

Algemene informatie

Description	Vastgesteld op basis van het nierheldercelcarcinoom pT2, N1, Mx/ GII-III (longmetastase) van een 63-jarige man door Pomer et al. in 1997. De cellen zijn G250-positief.
Organism	Mens
Tissue	Nieren
Disease	Heldercellig niercelcarcinoom, pT2, N1, Mx/ GII-III (longmetastase
Synonyms	KTCTL-1M, KTCTL1M, RCCMF

Kenmerken

Age	63 jaar
Gender	Mannelijk
Ethnicity	Kaukasisch
Morphology	Epitheelachtig
Growth properties	Monolaag, adherent

Regelgevende gegevens

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

Biomoleculaire gegevens

RCC-MF-cellen | 300245

Surface antigens	Cytokeratine positief 8,18,19, vimentine positief
Receptors expressed	CAIx+
Protein expression	P53 positief, G250 positief, IL8
Tumorigenic	Ja, in naakte muizen
Mutational profile	IL8 RS1126647 3-UTR SNP T>T

Omgaan met

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiele Glutamine, w: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytion artikelnummer 820700a)
Supplements	Vul het medium aan met 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenderen en vervolgens centrifugeren bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.
Split ratio	Een verhouding van 1:2 tot 1:3 wordt aanbevolen
Seeding density	2 tot 3 x 10^4 cellen/cm^2
Fluid renewal	1 tot 2 keer per week
Freeze medium	Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedium (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

RCC-MF-cellen | 300245

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan -150 °C om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van 37 °C met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij 300 x g om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% $_{CO2}$, bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Geen

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Storage Conditions	Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole en moleculaire analyse

Sterility	Mycoplasmaverontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasmadetectiemethoden. Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.
STR profiel	**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-allelen	**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