

RCC-FG1-cellen | 300248

Algemene informatie

Description	Vastgesteld uit het heldercelcarcinoom pT2a, M1/GII van een 69-jarige man in 1999, PAS-positief. De cellen vertonen een hoge expressie van P-170 glycoproteïne.
Organism	Mens
Tissue	Nieren
Disease	Heldercellig niercelcarcinoom, pT2a, M1/ GII
Synonyms	KTCTL-26, KTCTL26, RCCFG1

Kenmerken

Age	69 jaar
Gender	Mannelijk
Ethnicity	Kaukasisch
Morphology	Epitheelachtig
Growth properties	Monolaag, adherent

Regelgevende gegevens

Citation	RCC-FG1 (Cytion catalogusnummer 300248)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_5872
Depositor	Prof. S. Pomer

Biomoleculaire gegevens

RCC-FG1-cellen | 300248

Surface antigens	Cytokeratine positief 8,18,19, vimentine positief
Receptors expressed	HLA-A2 negatief
Protein expression	IL8
Tumorigenic	In naakte muizen
Mutational profile	IL8 RS1126647 3-UTR SNP A>T

Omgaan met

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiele Glutamine, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (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 centrifugereren 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	1×10^4 cellen/cm ²
Fluid renewal	1 tot 2 keer per week
Post-Thaw Recovery	Na ontdooien, zaai de cellen uit op 5×10^4 cellen/cm ² en laat de cellen minstens 48 uur herstellen van het invriesproces en zich hechten.

RCC-FG1-cellen | 300248

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.

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 $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 $300 \times g$ 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

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , 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 $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

RCC-FG1-cellen | 300248**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 / Genetisch profiel / HLA**Sterility**

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

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,y
CSF1PO: 11
D13S317: 11,12
D16S539: 11,13
D5S818: 10,11,12
D7S820: 10,11,12
TH01: 9
TPOX: 8,11
vWA: 18,19
D3S1358: 16
D21S11: 29,3
D18S51: 14,17
Penta E: 12,17
Penta D: 9,13,18
D8S1179: 12,13,15
FGA: 19,23

HLA-allelen

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