

RCC-ER-celler | 300238

Generell informasjon

Description	Denne cellelinjen ble etablert fra klarcellet nyrecellekarsinom, pT3a, N1, Mx/GIII, hos en 57 år gammel mann i 1999.
Organism	Menneskelig
Tissue	Nyre
Disease	Klarcellet nyrecellekarsinom, pT3a, N1, Mx/GII
Synonyms	KTCTL-13, KTCTL13, KTCTL 13, RCCER

Kjennetegn

Age	57 år
Gender	Mann
Ethnicity	Kaukasisk
Morphology	Epitel-lignende
Growth properties	Monolag, vedheftende

Regulatoriske data

Citation	RCC-ER (Cytion-katalognummer 300238)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_5870
Depositor	Prof. S. Pomer

Biomolekylære data

RCC-ER-celler | 300238

Surface antigens	Cytokeratin-positiv 8,18,19, vimentin-positiv
Protein expression	P53-positiv, IL8
Tumorigenic	Ja, i nakne mus
Mutational profile	IL8 RS1126647 3-UTR Wt
Håndtering	
Culture Medium	RPMI 1640, m: 2,0 mM stabil glutamin, m: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion artikkelnummer 820700a)
Supplements	Suppler mediet med 10 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspendere cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.
Split ratio	Et forhold på 1:2 til 1:3 anbefales
Seeding density	1 x 10 ⁴ celler/cm ²
Fluid renewal	1 til 2 ganger per uke
Post-Thaw Recovery	Etter tining, plasser cellene på 5 x 10 ⁴ celler/cm ² og la cellene komme seg etter fryseprosessen og feste seg i minst 24 timer.
Freeze medium	Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmoteskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoundusert stress.

RCC-ER-celler | 300238

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrysst ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelleten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

RCC-ER-celler | 300238

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.

STR-profil

Amelogenin: x,y
CSF1PO: 10,11
D13S317: 11,13
D16S539: 9,12
D5S818: 11
D7S820: 10,12
TH01: 6
TPOX: 8,11
vWA: 17,18
D3S1358: 18
D21S11: 30,21.2
D18S51: 14,17
D8S1179: 12,15
FGA: 21,26
D2S1338: 17,23
D19S433: 13.2,15.2

HLA-alleler

A*: '02:01:01, '24:02:01
B*: '13:02:01, '35:01:01
C*: '04:01:01, '06:02:01
DRB1*: '07:01:01, '13:01:01
DQA1*: '01:03:01, '02:01:01
DQB1*: '02:02:01, '06:03:01
DPB1*: '04:01:01
E: '01:01:01