

**Komórki RT-4 | 300326****Informacje ogólne**

**Description** Ta linia komórkowa została utworzona w 1970 roku przez Rigby'ego i wsp.

**Organism** Człowiek

**Tissue** Pęcherz moczowy

**Disease** Brodawczak z komórek przejściowych

**Synonyms** RT4, RT4P

**Charakterystyka**

**Age** 63 lata

**Gender** Mężczyzna

**Ethnicity** Kaukaski

**Morphology** Podobny do nabłonka

**Growth properties** Adherent

**Dane regulacyjne**

**Citation** RT-4 (numer katalogowy Cytion 300326)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_0036

**Dane biomolekularne**

**Protein expression** P53 dodatni

**Komórki RT-4 | 300326**

**Antigen expression** HLA A25(10), A3, B12, Cw3, grupa krwi O

**Isoenzymes** Me-2, 1, PGM1, 1-2, PGM3, 1-2, ES-D, 1-2, AK-1, 1, GLO-1, 1-2, G6PD, B, produkt częstotliwości fenotypu: 0.0050

**Tumorigenic** Tak, w woreczku policzkowym chomików leczonych sterydami

**Karyotype** (P174) hiperdiploidalne i hipotetraploidalne do hipertetraploidalnych z nieprawidłowościami, w tym dicentrycznością, przerwami, translokacjami i minutami

**Obsługa**

**Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-glutamina, w: 2,2 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: EBSS (numer artykułu Cytion 820100a)

**Supplements** Uzuppełnić podłoże 10% FBS i 1% NEAA

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzucić supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.

**Split ratio** Zalecany jest stosunek 1:2 do 1:4

**Fluid renewal** 2 do 3 razy w tygodniu

**Freeze medium** Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

## Komórki RT-4 | 300326

### Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej  $-150^{\circ}\text{C}$ , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze  $37^{\circ}\text{C}$  z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością  $300 \times g$  przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , nawilżona atmosfera.

### Flask Coating

W celu zapewnienia optymalnego przylegania i żywotności po rozmrożeniu zalecamy stosowanie **kolb lub płytek pokrytych kolagenem**.

### Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około  $-78^{\circ}\text{C}$  przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolkę do odpowiedniego miejsca przechowywania.

**Komórki RT-4 | 300326****Shipping Conditions**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

**Storage Conditions**

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

**Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA****Sterility**

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

**Profil STR**

**CSF1PO:** 10,12  
**D13S317:** 8  
**D16S539:** 9  
**D5S818:** 11,12  
**D7S820:** 9  
**TH01:** 9,9.3  
**TPOX:** 8,11  
**vWA:** 14,17  
**D3S1358:** 15  
**D21S11:** 30,32.2  
**D18S51:** 15,17  
**Penta E:** 7,10  
**Penta D:** 12  
**D8S1179:** 13,15  
**FGA:** 22,24

**Allele HLA**

**A\*:** '02:01:01, '03:01:01  
**B\*:** '44:02:01  
**C\*:** '05:01:01  
**DRB1\*:** '04:01:01, '14:54:01  
**DQA1\*:** '01:04:01, '03:03:01  
**DQB1\*:** '03:01:01, '05:03:01  
**DPB1\*:** '04:01:01, '682:01:00  
**E:** '01:01, '01:03