

**Células RCC-GH | 300252****Informações gerais****Description** Estabelecido a partir de tecido de carcinoma renal.**Organism** Humano**Tissue** Rim**Disease** Carcinoma de células renais de células claras**Caraterísticas****Age** 63 anos**Gender** Masculino**Ethnicity** Caucasiano**Morphology** De tipo epitelial**Growth properties** Monocamada, aderente**Dados regulamentares****Citation** RCC-GH (número de catálogo Cytion 300252)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellSaurusAccession** CVCL\_5874**Dados biomoleculares****Protein expression** IL8**Mutational profile** IL8 RS1126647 3-UTR SNP A>T

**Células RCC-GH | 300252****Manuseamento**

<b>Culture Medium</b>	RPMI 1640, com: 2,0 mM de glutamina estável, com: 2,0 g/L NaHCO <sub>3</sub> (número de artigo Cytion 820700a)
<b>Supplements</b>	Completar o meio com 10% de FBS
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Subculturing</b>	Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e, nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.
<b>Split ratio</b>	Recomenda-se um rácio de 1:2 a 1:3
<b>Seeding density</b>	1 x 10 <sup>4</sup> células/cm <sup>2</sup>
<b>Fluid renewal</b>	1 a 2 vezes por semana
<b>Post-Thaw Recovery</b>	Após o descongelamento, coloque as células em placas a uma densidade de 5 x 10 <sup>4</sup> células/cm <sup>2</sup> e deixe-as recuperar do processo de congelamento e aderir durante pelo menos 48 horas.
<b>Freeze medium</b>	Como meio de criopreservação, utilize um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

## Células RCC-GH | 300252

### Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a  $-150^{\circ}\text{C}$  para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a  $37^{\circ}\text{C}$  com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a  $300 \times g$  durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

### Incubation Atmosphere

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

### Flask Coating

Para uma fixação e viabilidade óptimas após a descongelação, recomendamos a utilização de **frascos ou placas revestidos com colagénio**.

### Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente  $-78^{\circ}\text{C}$  durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

## Células RCC-GH | 300252

### Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

### Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

## Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

### Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.

### Perfil STR

**Amelogenin:** x,x  
**CSF1PO:** 12,13  
**D13S317:** 12,14  
**D16S539:** 8, 10, 12  
**D5S818:** 11,12  
**D7S820:** 9, 10, 11  
**TH01:** 6,9,9.3  
**TPOX:** 8,11  
**vWA:** 17, 18, 19  
**D3S1358:** 13,16  
**D21S11:** 28, 29, 30  
**D18S51:** 12, 17, 18, 23  
**Penta E:** 5, 7, 10, 12  
**Penta D:** 9, 11, 12  
**D8S1179:** 12, 13, 15  
**FGA:** 21, 22, 24, 26  
**PEZ6:** HuT-78