

Células RCC-MF | 300245**Informações gerais**

Description	Estabelecido a partir do carcinoma renal de células claras pT2, N1, Mx/ GII-III (metástase pulmonar) de um homem de 63 anos de idade por Pomer et al. em 1997. As células são G250 positivas.
Organism	Humano
Tissue	Rim
Disease	Carcinoma de células renais de células claras, pT2, N1, Mx/ GII-III (metástases no pulmão)
Synonyms	KTCTL-1M, KTCTL1M, RCCMF

Caraterísticas

Age	63 anos
Gender	Masculino
Ethnicity	Caucasiano
Morphology	De tipo epitelial
Growth properties	Monocamada, aderente

Dados regulamentares

Citation	RCC-MF (número de catálogo Cytion 300245)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_5884

Dados biomoleculares

Surface antigens	Citoqueratina positiva 8,18,19, vimentina positiva
-------------------------	--

Células RCC-MF | 300245**Receptors expressed** CAI_x+**Protein expression** P53 positivo, G250 positivo, IL8**Tumorigenic** Sim, em ratinhos nus**Mutational profile** IL8 RS1126647 3-UTR SNP T>T**Manuseamento****Culture Medium** RPMI 1640, com: 2,0 mM de glutamina estável, com: 2,0 g/L NaHCO₃ (número de artigo Cytion 820700a)**Supplements** Completar o meio com 10% de FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** 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.**Split ratio** Recomenda-se um rácio de 1:2 a 1:3**Seeding density** 2 a 3 x 10⁴ células/cm²**Fluid renewal** 1 a 2 vezes por semana**Freeze medium** Como meio de criopreservação, utilizamos 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-MF | 300245**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°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°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, desinfetando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfetado 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°C , 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

Flask Coating

Nenhum

**Freezing
Procedure**

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.

Células RCC-MF | 300245**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 e Análise Molecular**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 inspeções visuais diárias.

Perfil STR

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: 13h15
Penta E: 7,12
Penta D: 12,16
D8S1179: 10,14
FGA: 20

Alelos HLA

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