

Клетки RD | 300401

Обща информация

Description	Неотдавна беше доказано, че тази линия е поне родствена, ако не и идентична с TE-671.
Organism	Човек
Tissue	Ембрионален
Disease	Рабдомиосарком
Metastatic site	Неприложимо (ембрионален рабдомиосарком; клетъчна линия, получена от ембрионална тъкан, а не от метастатична проба)
Applications	Изследвания върху рабдомиосаркома; биология на педиатричните саркоми; проучвания върху диференциацията на скелетните мускули; лекарствена чувствителност (винкристин, дактиномицин, циклофосфамид); анализ на миогенните транскрипционни фактори; тестове за вирусна чувствителност
Synonyms	R D, RD-2, RD 2, 130T, 130-T, 130 T, TE-32, TE 32, TE32, TE 32.T, Te 32.T

Характеристики

Age	Ембрион
Gender	Жена
Ethnicity	Кавказки
Morphology	Смесен (въртеловидни клетки и големи многоядрени клетки)
Cell type	Верижни клетки и големи многоядрени клетки
Growth properties	Придържачи се

Регулаторни данни

Citation	RD (каталожен номер 300401 на Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606

Клетки RD | 300401

CellosaurusAccession CVCL_1649**GMO Status** Без генетична модификация; родителска линия на рабдомиосаркома RD. Забележка: Фактът, че TE-671 е производна линия, не означава, че е генетично модифицирана; и двете линии са естествено възникнали тумори.

Биомолекулярни данни

Isoenzymes G6PD, B**Virus susceptibility** Полиовирус 1, везикуларен стоматит (Индиана), херпес симплекс, ваксина**Reverse transcriptase** Отрицателен**Products** Миоглобин, миозин АТФ-аза**Karyotype** 2n=48

Работа с

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L глюкоза, w: 4 mM L-глутамин, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM натриев пируват (номер на изделието на Cytion 820300a)**Supplements** Допълнете средата с 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** приблизително 24 до 36 часа**Subculturing** Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирайте, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.**Split ratio** от 1 до 3

Клетки RD | 300401

Seeding density от 1 до 3×10^4 клетки/см²

Fluid renewal На всеки 3 до 4 дни

Post-Thaw Recovery След размразяването разпределете клетките в култура с плътност 5×10^4 клетки/см² и изчакайте поне 24 часа, докато се прикрепят, преди първата смяна на средата.

Freeze medium Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при $300 \times g$ в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Клетки RD | 300401

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, овлажнена атмосфера.

Flask Coating Няма

Freezing Procedure Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Shipping Conditions Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility За мърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.

Клетки RD | 300401

Профил на STR

Amelogenin: x,x
CSF1PO: 10,11
D13S317: 13
D16S539: 10,11
D5S818: 11
D7S820: 8,12
TH01: 09 март
TPOX: 9
vWA: 18
D3S1358: 15,17
D21S11: 28, 29
D18S51: 13,18
Penta E: 12
Penta D: 11,13
D8S1179: 11:15
FGA: 20,21

HLA алели

A*: '01:01:01
B*: '37:01:01
C*: '06:02:01
DRB1*: '03:01:01
DQA1*: '05:01:01
DQB1*: '02:01:01
DPB1*: '01:01:01
E: '01:01:01