

RD-kennot | 300401

## Yleisiä tietoja

<b>Description</b>	Tämän linjan on hiljattain osoitettu olevan vähintäänkin vanhempiensa kaltainen, ellei jopa identtinen TE-671:n kanssa.
<b>Organism</b>	Ihminen
<b>Tissue</b>	Alkioaikainen
<b>Disease</b>	Rabdomyosarkooma
<b>Synonyms</b>	R D, RD-2, RD 2, 130T, 130-T, 130 T, TE-32, TE 32, TE32, TE 32.T, TE 32.T, Te 32.T

## Ominaisuudet

<b>Age</b>	Alkio
<b>Gender</b>	Nainen
<b>Ethnicity</b>	Kaukasialainen
<b>Cell type</b>	Karasolut ja suuret monitumaiset solut
<b>Growth properties</b>	Tarttuva

## Säätelytiedot

<b>Citation</b>	RD (Cytionin luettelonumero 300401)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_1649

## Biomolekyylitiedot

<b>Isoenzymes</b>	G6PD, B
-------------------	---------

## RD-kennot | 300401

**Virus susceptibility** Poliovirus 1, vesicular stomatitis (Indiana), herpes simplex, vaccinia

**Reverse transcriptase** Negatiivinen

**Products** Myoglobiini, myosiinin ATPaasi

**Karyotype** 2n=48

## Käsittely

**Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukoosia, w: 4 mM L-glutamiinia, w: 3,7 g/l NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM natriumpyruvaattia (Cytionin artikkelinumero 820300a)

**Supplements** Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.

**Split ratio** Suositeltava suhde on 1:2

**Fluid renewal** 3-4 päivän välein

**Freeze medium** Käytä kryosäilytysmediaa täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden saavuttamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryon aiheuttamaa stressiä.

## RD-kennot | 300401

### Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

### Incubation Atmosphere

37 °C, 5 %  $\text{CO}_2$ , kostutettu ilmakehä.

### Flask Coating

Optimaalisen kiinnittymisen ja elinkelpoisuuden saavuttamiseksi sulatuksen jälkeen suosittelemme **kollageenipinnoitettujen pullojen tai levyjen** käyttöä.

### Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

## RD-kennot | 300401

**Shipping  
Conditions**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädssä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

**Storage  
Conditions**

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

**Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA****Sterility**

Mykoplasmaakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.

**STR-profiili**

**Amelogenin:** x,x  
**CSF1PO:** 10,11  
**D13S317:** 13  
**D16S539:** 10,11  
**D5S818:** 11  
**D7S820:** 8,12  
**TH01:** 9. maaliskuuta  
**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-alleelit**

**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