

## RD-ES-kennot | 300410

## Yleisiä tietoja

<b>Description</b>	G. Marshall ja M. Kirchen aloittivat solulinjan primaarisesta luisesta Ewingin sarkoomasta. Ultrarakenteellisesti soluilla on primitiivisiä soluliitoksia, niillä on glykokeenivarastoja ja niiden halkaisija on 20-25 mikronia. Solut kasvavat löyhästi kiinnittyneinä yksikerroksisina pieninä 5-10 solun klustereina. Solut muodostavat löyhän tarttuvan kerroksen, kun niitä viljellään EMEM:ssä.
<b>Organism</b>	Ihminen
<b>Tissue</b>	Luu
<b>Disease</b>	Ewingin sarkooma
<b>Synonyms</b>	RDES, RDES-1

## Ominaisuudet

<b>Age</b>	19 vuotta
<b>Gender</b>	Mies
<b>Ethnicity</b>	Kaukasialainen
<b>Morphology</b>	Epiteelin kaltainen
<b>Growth properties</b>	Yksikerroksinen, tarttuva

## Säätelytiedot

<b>Citation</b>	RD-ES (Cytionin luettelonumero 300410)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_2169

## Biomolekyylitiedot

## RD-ES-kennot | 300410

**Antigen expression** Veriryhmä B, Rh+

**Isoenzymes** G6PD, B, PGM1, 1-2, PGM3, 1, ES-D, 1, Me-2, 1-2, AK-1, 1, GLO-1, 1-2, Fenotyypin frekvenssituote: 0.0359

## Käsittely

**Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilia glutamiinia, w: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (Cytionin artikkelinumero 820700a)

**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 1:3–1:8

**Fluid renewal** 2-3 kertaa viikossa

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

## RD-ES-kennot | 300410

### 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  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ :n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ :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  $300 \times g$ :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 tarttuvaa, 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

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

### Flask Coating

Ei mitään

### Freezing Procedure

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

### Shipping Conditions

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

**RD-ES-kennot | 300410**

**Storage  
Conditions**

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

**CSF1PO:** 11,11  
**D13S317:** 11,12  
**D16S539:** 9,11  
**D5S818:** 11,11  
**D7S820:** 10,1  
**TH01:** 7,7  
**TPOX:** 9,11  
**vWA:** 17,17  
**D3S1358:** 15,15  
**D21S11:** 28,28  
**D18S51:** 14,18  
**Penta E:** 11,13  
**Penta D:** 9,12  
**D8S1179:** 13,13  
**FGA:** 21,25