

RD šūnas | 300401

Vispārīga informācija

Description	Nesen tika pierādīts, ka šī līnija ir vismaz radniecīga, ja ne identiska TE-671.
Organism	Cilvēks
Tissue	Embrionālais
Disease	Rabdomiosarkoma
Metastatic site	Neattiecas (embrijālā rabdomiosarkoma; šūnu līnija iegūta no embrija audiem, nevis no metastātiska parauga)
Applications	Rabdomiosarkomas pētījumi; bērnu sarkomu bioloģija; skeleta muskuļu diferenciācijas pētījumi; jutība pret zālēm (vinkristīns, daktinomicīns, ciklofosfamīds); miogēno transkripcijas faktoru analīze; vīrusu uzņēmības testi
Synonyms	R D, RD-2, RD 2, 130T, 130-T, 130 T, TE-32, TE 32, TE 32, TE32, TE 32.T, Te 32.T, Te 32.T

Raksturojums

Age	Embrijs
Gender	Sievietes
Ethnicity	Kaukāzietis
Morphology	Jaukta (vārpstveida šūnas un lielas daudzkodolu šūnas)
Cell type	Verpstveida šūnas un lielas daudzkodolu šūnas
Growth properties	Adherent

Normatīvie dati

Citation	RD (Cytion kataloga numurs 300401)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606

RD šūnas | 300401

CellosaurusAccession CVCL_1649**GMO Status** Nav ģenētiski modificētas; izcelsme no RD rabdomiosarkomas vecāku līnijas. Piezīme: TE-671 atvasinājuma statuss nenozīmē, ka tā ir ģenētiski modificēta; abas līnijas ir dabīgi sastopami audzēji.**Biomolekulārie dati****Isoenzymes** G6PD, B**Virus susceptibility** Poliovīruss 1, vezikulārais stomatīts (Indiana), herpes simplex, vakcīnija**Reverse transcriptase** Negatīvs**Products** Mioglobīns, miozīna ATPāze**Karyotype** 2n=48**Darbs ar****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glikozes, w: 4 mM L-glutamīna, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM nātrija piruvāta (Cytion izstrādājuma numurs 820300a)**Supplements** Papildināt barotni ar 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** aptuveni 24 līdz 36 stundas**Subculturing** Noņem veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.**Split ratio** no 1 līdz 3**Seeding density** 1 līdz 3×10^4 šūnas/cm²

RD šūnas | 300401

Fluid renewal Ik pēc 3 līdz 4 dienām

Post-Thaw Recovery Pēc atkausēšanas izsējiet šūnas blīvumā 5×10^4 šūnas/cm² un pirms pirmās barotnes nomaiņas ļaujiet tām vismaz 24 stundas pielipt.

Freeze medium Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

Thawing and Culturing Cells

1. Pārlicinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, mitrināta atmosfēra.

Flask Coating Neviens

RD šūnas | 300401

Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA**Sterility**

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.

STR profils

Amelogenin: x,x
CSF1PO: 10,11
D13S317: 13
D16S539: 10,11
D5S818: 11
D7S820: 8,12
TH01: 9. marts
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

RD šūnas | 300401

HLA alēles

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