

**Células RD | 300401****Informações gerais**

<b>Description</b>	Foi recentemente demonstrado que esta linha é pelo menos parental, se não idêntica, à TE-671.
<b>Organism</b>	Humano
<b>Tissue</b>	Embrionário
<b>Disease</b>	Rabdomiossarcoma
<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

**Caraterísticas**

<b>Age</b>	Embrião
<b>Gender</b>	Feminino
<b>Ethnicity</b>	Caucasiano
<b>Cell type</b>	Células fusiformes e grandes células multinucleadas
<b>Growth properties</b>	Aderente

**Dados regulamentares**

<b>Citation</b>	RD (número de catálogo Cytion 300401)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_1649

**Dados biomoleculares**

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

**Células RD | 300401**

**Virus susceptibility** Poliovírus 1, estomatite vesicular (Indiana), herpes simplex, vaccinia

**Reverse transcriptase** Negativo

**Products** Mioglobina, miosina ATPase

**Karyotype** 2n=48

**Manuseamento**

**Culture Medium** DMEM, com: 4,5 g/L de glucose, com: 4 mM de L-Glutamina, com: 3,7 g/L de NaHCO<sub>3</sub>, com: 1,0 mM de piruvato de sódio (número de artigo Cytion 820300a)

**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 uma proporção de 1:2

**Fluid renewal** A cada 3 ou 4 dias

**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 RD | 300401

### 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  $-150^{\circ}\text{C}$  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  $37^{\circ}\text{C}$  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, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado 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

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , 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  $-78^{\circ}\text{C}$  durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

## Células RD | 300401

### 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 / Perfil genético / HLA

### 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:** 10,11  
**D13S317:** 13  
**D16S539:** 10,11  
**D5S818:** 11  
**D7S820:** 8,12  
**TH01:** 9 de março  
**TPOX:** 9  
**vWA:** 18  
**D3S1358:** 15,17  
**D21S11:** 28, 29  
**D18S51:** 13,18  
**Penta E:** 12  
**Penta D:** 11,13  
**D8S1179:** 11h15  
**FGA:** 20,21

### Alelos HLA

**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