

**Bunky TE-671 | 300355****Všeobecné informácie**

**Description** Pôvodná bunková línia TE671 bola vytvorená explantátovou kultúrou z fragmentov biopsie cerebelárneho meduloblastómu. Bunkový kmeň bol izolovaný odobratím niekoľkých viacvrstvových okrúhlych alebo polygonálnych buniek, ktoré sa nachádzali v monovrstvách stromálnych gliových buniek pomocou Pasteurových pipiet. Tvorí kolónie v mäkkom agarovom médiu. Pri skúmaní elektrónovým mikroskopom sa nepozorovali nervové ani gliové elementy a nezistili sa žiadne vírusy. Bunky majú funkčné nikotínové acetylcholinové receptory. Nie sú zistené žiadne aktivity cholín acetyltransferázy alebo tyrozín hydroxylázy. Cytogenetické štúdie Strattona et al. (1989) odhalili, že TE671 a RD sú deriváty tej istej bunkovej línie rabdomyosarkómového pôvodu.

**Organism** Ľudské

**Tissue** Svaly

**Disease** Rabdomyosarkóm

**Synonyms** TE671, TE 671, TE671/RD

**Charakteristika**

**Age** 7 rokov

**Gender** Ženy

**Morphology** Epitelu podobné

**Growth properties** Adherent

**Regulačné údaje**

**Citation** TE-671 (katalógové číslo Cytion 300355)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_1756

**Biomolekulárne údaje**

**Bunky TE-671 | 300355**

**Receptors expressed** Acetylcholínový receptor, periférny typ benzodiazepínového receptora

**Antigen expression** Vimentín+, desmin+, keratín- (MNF-116)

**Karyotype** 2n=47, 42% má 48 chromozómov

**Spracovanie**

**Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutamínu, w: 3,7 g/l NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)

**Supplements** Doplníte médium o 10 % FBS

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredíte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.

**Seeding density** 1 x 10<sup>4</sup> buniek/cm<sup>2</sup>

**Fluid renewal** 2 až 3-krát týždenne

**Post-Thaw Recovery** Po rozmrazení naneste bunky v koncentrácii 5 x 10<sup>4</sup> buniek/cm<sup>2</sup> a nechajte bunky zotaviť sa z procesu zmrazenia a prilnúť aspoň 24 hodín.

**Freeze medium** Ako kryokonzervačné médium používame 50 % bazálne médium + 40 % FBS + 10 % DMSO alebo CM-1 (katalógové číslo Cytion 800100), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

**Bunky TE-671 | 300355****Thawing and  
Culturing Cells**

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

**Incubation  
Atmosphere**

37 °C, 5 %  $\text{CO}_2$ , zvlhčená atmosféra.

**Flask Coating**

Žiadne

**Freezing  
Procedure**

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

**Shipping  
Conditions**

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

## Bunky TE-671 | 300355

### Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

## Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

### Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.