

Клетки на Yoshida Sarcoma RY(ham) | 500415

Обща информация

Description Тази клетъчна линия е създадена като in vitro клетъчна линия от сарком на Yoshida Ascites, индуциран при плъхове Sprague-Dawley.

Organism Плъх

Disease Сарком

Metastatic site Асцит

Характеристики

Cell type Фибробласти

Growth properties Прилепване/суспензия

Регулаторни данни

Citation RY(ham) Yoshida Sarcoma (каталожен номер 500415 на Cytion)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10116

CellosaurusAccession CVCL_1D05

Биомолекулярни данни

Работа с

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM стабилен глутамин, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (номер на статията в Cytion 820700a)

Supplements Допълнете средата с 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Клетки на Yoshida Sarcoma RY(ham) | 500415

Subculturing Съберете суспендираните клетки в 15-милилитрова епруветка и внимателно промийте прилепналите клетки с PBS без калций и магнезий (използвайте 3-5 ml за колби T25 и 5-10 ml за колби T75). Нанесете Accutase (1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75), като се уверите, че покрива изцяло клетъчния слой. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 10 минути. След инкубацията комбинирайте и центрофугирайте суспензията и адхезивните клетки. След центрофугирането внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета и прехвърлете клетъчната суспензия в нови колби, съдържащи свежа среда.

Seeding density 1 до 2×10^4 клетки/cm²

Post-Thaw Recovery След размразяване клетките трябва да се обработват при концентрация от 5×10^5 клетки/ml и да се оставят да се възстановят за най-малко 48 часа.

Freeze medium Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки на Yoshida Sarcoma RY(ham) | 500415

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при $300 \times g$ в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

За оптимално прикрепване и жизнеспособност след размразяване препоръчваме да се използват **колби или плаки с колагеново покритие**.

Freezing Procedure

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки на Yoshida Sarcoma RY(ham) | 500415

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196°C . Съхранението при -80°C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.