Product sheet

Клетки RPMI 2650 | 300323

Обща информация

Description	Клетките са положителни за кератин чрез имунопероксидазно оцветяване.
Organism	Човек
Tissue	Носна преграда
Disease	Плоскоклетъчен карцином
Metastatic site	Плеврален излив
Synonyms	RPMI-2650, RPMI2650, Roswell Park Memorial Institute 2650

Характеристики

Age	52 години
Gender	Мъжки
Ethnicity	Кавказки
Morphology	Подобни на епител
Growth properties	Монослой, прилепнал

Регулаторни данни

Citation	RPMI 2650 (каталожен номер 300323 на Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1664

Биомолекулярни данни

Isoenzymes	G6PD, B

Клетки RPMI 2650 | 300323

Reverse transcriptase	Отрицателен
Products	Мукоид, кератин

Работа с

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamine, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (номер на статията в Cytion 820100a)
Supplements	Допълнете средата с 10% FBS и 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	48 часа
Subculturing	Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.
Split ratio	Препоръчва се съотношение от 1:2 до 1:4
Fluid renewal	2 пъти седмично
Post-Thaw Recovery	След размразяването оставете клетките да се възстановят от процеса на замразяване за поне 24-48 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 RPMI 2650 | 300323

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 съхранявайте незабавно криовиолата при температури под -150 °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°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 разбъркате внимателно.

6. Центрофугирайте сместа при 300 x 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%$_{CO2}$, овлажнена атмосфера.

Flask Coating

Няма

Freezing Procedure

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.

Клетки RPMI 2650 | 300323

Shipping Conditions	Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед в утвърдени, изолирани опаковки 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 и молекулярен анализ

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.
Профил на STR	**Amelogenin**: x,x **CSF1PO**: 9,11 **D13S317**: 11,12 **D16S539**: 11,12 **D5S818**: 12,13 **D7S820**: 8,11 **TH01**: 6,8 **TPOX**: 8 **vWA**: 16,18 **D3S1358**: 17 **D21S11**: 28,33,2 **D18S51**: 16 **Penta E**: 11,19 **Penta D**: 9,1 **D8S1179**: 9,13 **FGA**: 23,25
HLA алели	**A***: '02:01:01, '03:01:01 **B***: '07:02:01, '35:01:01 **C***: '03:03:01, '07:02:01 **DRB1***: '07:01:01, '08:01:01G **DQA1***: '02:01:01, '04:01:01 **DQB1***: '03:03:02, '04:02:01 **DPB1***: '04:01:01 **E**: '01:01:01, '01:03