

Buňky RPMI 8226 | 300431**Obecné informace****Description**

Buňky RPMI 8226 jsou lidskou myelomovou buněčnou linií, která byla vytvořena v roce 1966 z periferní krve 61letého pacienta s mnohočetným myelomem. Tato buněčná linie byla pojmenována podle Roswell Park Memorial Institute (RPMI), kde byla vyvinuta, a číslo 8226 označuje její konkrétní katalogové číslo v buněčné bance.

Buněčná linie RPMI 8226 je důležitým modelovým systémem pro studium mnohočetného myelomu a souvisejících aspektů biologie plazmatických buněk, imunologického výzkumu a terapie rakoviny. Buňky RPMI 8226 jsou známé tím, že produkují a vylučují lehké řetězce kappa imunoglobulinů, což je vlastnost, která se často využívá ve výzkumných studiích ke zkoumání mechanismů produkce a vylučování protilátek.

Buňky RPMI 8226 vykazují četné chromozomální abnormality, které jsou typické pro buňky mnohočetného myelomu. Patří mezi ně translokace, delece a amplifikace, které postihují různé onkogeny a tumor supresorové geny.

Lidské myelomové buněčné linie RPMI 8226 jsou široce využívány při výzkumu objevování a vývoji léčiv a byly použity ke zkoumání cest rezistence k léčivům a hodnocení kombinovaných terapií.

Souhrnně lze říci, že buňky RPMI 8226 představují důležitý model in vitro pro výzkum mnohočetného myelomu, který umožňuje zkoumat biologické a molekulární mechanismy, jež jsou základem tohoto onemocnění, a vyvíjet terapeutické strategie.

Organism Člověk**Tissue** Periferní krev**Disease** Mnohočetný myelom**Synonyms** RPMI-8226, RPMI.8226, RPMI8226, RPMI no. 8226, RPMI č. 8226, RPMI č. 8226, 8226, RPMI 8226/S, RPMI-8226S, RPMI8226/S, 8226/S, Roswell Park Memorial Institute 8226, GM02132, GM2132, GM 2132, GM02132C, Simpson**Charakteristika****Age** 61 let**Gender** Muži**Morphology** Kulaté buňky**Growth properties** Přilnavost/suspenze**Regulační údaje**

Buňky RPMI 8226 | 300431

Citation RPMI 8226 (katalogové číslo Cytion 300431)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0014

Biomolekulární data

Antigen expression HLA Aw19, B15, B37, Cw2**Isoenzymes** G6PD, A**Reverse transcriptase** Negativní**Products** Lehký řetězec imunoglobulinu

Zpracování

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilní glutamin, w: 2,0 g/l NaHCO₃ (číslo výrobku Cytion 820700a)**Supplements** Doplňte médium o 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Shromážděte suspenzi buněk do 15 ml zkumavky a jemně promyjte adherentní buňky PBS bez vápníku a hořčíku (použijte 3-5 ml pro baňky T25 a 5-10 ml pro baňky T75). Aplikujte Accutase (1-2 ml pro baňky T25, 2,5 ml pro baňky T75), abyste zajistili úplné pokrytí buněčné vrstvy. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 10 minut. Po inkubaci spojte a odstředte suspenzi i adheované buňky. Po odstředění opatrně resuspendujte buněčnou peletu a přeneste buněčnou suspenzi do nových baněk obsahujících čerstvé médium.**Split ratio** Doporučuje se poměr 1:2 až 1:4**Seeding density** Nové kultury zahajte s 5×10^5 životaschopnými buňkami/ml. Subkultura s $1-2 \times 10^6$ buňkami/ml. Maximální hustota buněk je $1-2 \times 10^6$ buněk/ml.**Fluid renewal** 2 až 3krát týdně

Buňky RPMI 8226 | 300431

Post-Thaw Recovery

Po rozmrazení nechte buňky alespoň 24 hodin zotavovat z procesu zmrazování.

Freeze medium

Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředujte při $300 \times g$ po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žádný

Buňky RPMI 8226 | 300431

Freezing Procedure

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.

Profil STR

Amelogenin: x,x
CSF1PO: 12
D13S317: 11
D16S539: 9
D5S818: 11,13
D7S820: 9,1
TH01: 8
TPOX: 8,11
vWA: 16,18
D3S1358: 16,17
D21S11: 28,29
D18S51: 15,19
Penta E: 16,17
Penta D: 2,2,11
D8S1179: 13
FGA: 19

Buňky RPMI 8226 | 300431

Alely HLA

A*: '30:01:01, '68:02:01

B*: '15:03:01, '15:10:01

C*: '02:10:01, '03:04:02

DRB1*: '03:01:01, '07:01:01

DQA1*: '02:01:01, '05:01:01

DQB1*: '02:01:01, '02:02:01

DPB1*: '01:01:02G, '13:01:01G

E: '01:01:01, '01:03