

L6565 Buňky | 305189

Obecné informace

Description

Buňky L6565 byly odvozeny z pankreatických suspenzí splenocytů myši s leukémií L6565. Počet chromozomů se pohyboval od 38 do 144. Elektronmikroskopická pozorování odhalila, že klonální buňky L6565 měly dobře definovaná jádra a hojnost organel a virových částic třídy A a C v cytoplazmě. V těchto buňkách byly nadměrně exprimovány onkogeny c-myc a c-fos. Buněčný klon L6565 je linie kmenových buněk lymfoblastické leukemie obsahující RNA virus. V této knihovně prošla testem na detekci mykoplazmy.

Význam buněčné linie L6565 spočívá v tom, že poskytuje standardizované experimentální buněčné zdroje a související technickou podporu pro výzkum v oblasti přírodních věd a biotechnologií. Tyto buňky mohou mít zásadní význam pro pochopení molekulárních mechanismů leukémie, zejména úlohy virových částic a exprese onkogenů v leukemogenezi. Kromě toho slouží jako cenný nástroj pro testování a vývoj léků, který výzkumným pracovníkům umožňuje zkoumat potenciální terapeutické strategie pro leukémii a další příbuzné poruchy

Organism

Myš

Tissue

Periferní krev

Charakteristika

Morphology

Lymfoblasty

Growth properties

Adherence a suspenze

Regulační údaje

Citation

L6565 (katalogové číslo Cytion 305189)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

10090

CellosaurusAccession

CVCL_A9NB

Biomolekulární data

Zpracování

Culture Medium

DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glukózy, w: 2,5 mM L-Glutaminu, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM pyruvátu sodného, w: 1,2 g/l NaHCO₃ (číslo výrobku Cytion 820400a)

L6565 Buňky | 305189

Supplements Doplňte médium 10% FBS, 0,005 mg/ml inzulínu, 0,01 mg/ml lidského transferinu, 0,1 mM etanolaminu, 0,1 mM fosfoetanolaminu, 25 nM selenu, 500 nM hydrokortizonu, 0,005 mM forskolinu, extraktem z hovězí hypofýzy (0,15 mg proteinu na ml)

Subculturing Jemně homogenizujte buněčnou suspenzi v baňce pipetováním nahoru a dolů, poté odeberte reprezentativní vzorek pro stanovení buněčné hustoty na ml. Suspenzi zředte čerstvým kultivačním médiem tak, aby koncentrace buněk byla 5×10^5 buněk/ml, a upravenou suspenzi rozdělte do nových baňek pro další kultivaci.

Split ratio 1:2 až 1:4

Fluid renewal 2 až 3krát týdně

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°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°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 zkušavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředíte při $300 \times g$ po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujete.
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.

L6565 Buňky | 305189

Incubation Atmosphere 37 °C, 5 %_{CO2}, zvlhčená atmosféra.

Flask Coating Žádný

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 a molekulární analýza

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 vizuální kontrolám.