

RPMI 2650-celler | 300323

Generel information

Description	Cellerne er positive for keratin ved immunoperoxidasefarvning.
Organism	Menneske
Tissue	Næseskillevæggen
Disease	Pladecellekarcinom
Metastatic site	Pleural effusion
Synonyms	RPMI-2650, RPMI2650, Roswell Park Memorial Institute 2650

Karakteristika

Age	52 år
Gender	Mand
Ethnicity	Kaukasisk
Morphology	Epitel-lignende
Growth properties	Monolag, klæbende

Regulatoriske data

Citation	RPMI 2650 (Cytion katalognummer 300323)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1664

Biomolekylære data

Isoenzymes	G6PD, B
-------------------	---------

RPMI 2650-celler | 300323

Reverse transcriptase Negativ

Products Mucoïd, keratin

Håndtering

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytion artikelnummer 820100a)

Supplements Suppler mediet med 10% FBS og 1% NEAA

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 48 timer

Subculturing Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspend cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.

Split ratio Det anbefales at bruge et forhold på 1:2 til 1:4

Fluid renewal 2 gange om ugen

Post-Thaw Recovery Efter optøning skal cellerne have lov til at komme sig over fryseprocessen i mindst 24 til 48 timer.

Freeze medium Som kryopræservesmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmoteskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryoinduceret stress.

RPMI 2650-celler | 300323

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befugtet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

RPMI 2650-celler | 300323

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.

STR-profil

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-alleler

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