

RPMI 2650 sejtek | 300323

Általános információk

Description	A sejtek immunoperoxidáz festéssel keratinra pozitívak.
Organism	Emberi
Tissue	Orrsövény
Disease	Laphámsejtes karcinóma
Metastatic site	Mellhártya folyadékgyülem
Synonyms	RPMI-2650, RPMI2650, Roswell Park Memorial Institute 2650

Jellemzők

Age	52 év
Gender	Férfi
Ethnicity	Kaukázusi
Morphology	Epithelszerű
Growth properties	Monoréteg, tapadó

Szabályozási adatok

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

Biomolekuláris adatok

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

RPMI 2650 sejtek | 300323

Reverse transcriptase Negatív

Products Mucoïd, keratin

A kezelése

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

Supplements A táptalajt 10% FBS-szel és 1% NEAA-val kell kiegészíteni

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 48 óra

Subculturing Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.

Split ratio 1:2 és 1:4 közötti arányt javasolunk

Fluid renewal hetente 2 alkalommal

Post-Thaw Recovery A felolvasztás után hagyja, hogy a sejtek legalább 24-48 órán keresztül regenerálódjanak a fagyasztásból.

Freeze medium Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krioindukált stressz csökkentése érdekében.

RPMI 2650 sejtek | 300323

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150 °C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37 °C -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a kriofülkét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

**Incubation
Atmosphere**37°C, 5% CO_2 , párasított légkör.**Flask Coating**

Nincs

**Freezing
Procedure**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

**Shipping
Conditions**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

RPMI 2650 sejtek | 300323

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA**Sterility**

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.

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 allélok

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