

## L6565 ląstelės | 305189

## Bendra informacija

## Description

L6565 ląstelės buvo gautos iš L6565 leukemija sergančių pelių L6565 speneocitų kasos suspensijų. Chromosomų skaičius svyravo nuo 38 iki 144. Elektroninio mikroskopo stebėjimai parodė, kad L6565 klonų ląstelės turėjo gerai apibrėžtus branduolius, o citoplazmoje buvo gausu organelių ir A bei C klasės viruso dalelių. Šiose ląstelėse buvo padidėjusi onkogenų c-myc ir c-fos ekspresija. L6565 ląstelių klonas yra RNR viruso turinti limfoblastinės leukemijos kamieninių ląstelių linija. Šioje bibliotekoje ji išlaikė mikoplazmos aptikimo testą.

L6565 ląstelių linijos reikšmė yra ta, kad ji suteikia standartizuotus eksperimentinių ląstelių išteklius ir susijusią techninę pagalbą gyvybės mokslų ir biotechnologijų srities tyrimams. Šios ląstelės gali būti labai svarbios siekiant suprasti molekulinis leukemijos mechanizmus, ypač virusinių dalelių ir onkogenų raiškos vaidmenį leukemogenezėje. Be to, jos yra vertinga priemonė vaistų bandymams ir kūrimui, leidžianti mokslininkams ištirti galimas leukemijos ir kitų susijusių ligų gydymo strategijas

**Organism** Pelė

**Tissue** Periferinis kraujas

## Charakteristikos

**Morphology** Limfoblastai

**Growth properties** Prigludimas ir suspensija

## Reguliavimo duomenys

**Citation** L6565 (Cytion katalogo numeris 305189)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 10090

**CellosaurusAccession** CVCL\_A9NB

## Biomolekuliniai duomenys

## Tvarkymas

**Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l gliukozės, w: 2,5 mM L-glutamino, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natrio piruvato, w: 1,2 g/l NaHCO<sub>3</sub> (Cytion gaminio numeris 820400a)

## L6565 ląstelės | 305189

**Supplements** Papildykite terpę 10 % FBS, 0,005 mg/ml insulino, 0,01 mg/ml žmogaus transferino, 0,1 mM etanolamino, 0,1 mM fosfoetanolamino, 25 nM seleno, 500 nM hidrokortizono, 0,005 mM forskolino, galvijų hipofizės ekstrakto (0,15 mg baltymų viename ml)

**Subculturing** Švelniai homogenizuokite kolboje esantį ląstelių suspensiją, pipetuoiant aukštyn ir žemyn, tada paimkite reprezentatyvią mėginį, kad nustatytumėte ląstelių tankį ml. Praskieskite suspensiją, kad pasiektumėte  $5 \times 10^5$  ląstelių/ml koncentraciją šviežia kultūrinė terpė, ir sudėkite pakoreguotą suspensiją į naujas kolbas tolesniam auginimui.

**Fluid renewal** 2-3 kartus per savaitę

**Freeze medium** Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

### Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra priglundusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

**L6565 ląstelės | 305189**

**Incubation Atmosphere** 37 °C, 5 %<sub>CO2</sub>, drėkintoje atmosferoje.

**Flask Coating** Nėra

**Freezing Procedure** Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkeltite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

**Shipping Conditions** Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkeltite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

**Storage Conditions** Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeltant į skystą azotą.

**Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA**

**Sterility** Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.