

L6565 Šūnas | 305189

Vispārīga informācija

Description

L6565 šūnas tika iegūtas no L6565 leukēmijas peļu pankreatisko leukēmijas suspensijas. Hromosomu skaits svārstījās no 38 līdz 144. Elektronmikroskopiskie novērojumi atklāja, ka klona L6565 šūnām bija labi definēti kodoli un daudz organellu un A un C klases vīrusu daļiņu citoplazmā. Šajās šūnās bija pārmērīga onkogēnu c-myc un c-fos ekspresija. L6565 šūnu klons ir RNS vīrusu saturoša limfoblastiskās leukēmijas cilmes šūnu līnija. Tā ir izturējusi mikoplazmas noteikšanas testu šajā bibliotēkā.

L6565 šūnu līnijas nozīme ir tā, ka tā nodrošina standartizētus eksperimentālo šūnu resursus un saistīto tehnisko atbalstu pētījumiem dzīvības zinātņu un biotehnoloģijas jomā. Šīm šūnām var būt izšķiroša nozīme, lai izprastu leukēmijas molekulāros mehānismus, jo īpaši vīrusu daļiņu un onkogēnu ekspresijas lomu leukemogēnēzē. Turklāt tās kalpo kā vērtīgs līdzeklis zāļu testēšanai un izstrādei, ļaujot pētniekiem izpētīt potenciālās leukēmijas un citu saistītu slimību terapeitiskās stratēģijas

Organism

Pele

Tissue

Perifērās asinis

Raksturojums

Morphology

Limfoblasts

Growth properties

Adherent un suspensija

Normatīvie dati

Citation

L6565 (Cytion kataloga numurs 305189)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

10090

CellosaurusAccession

CVCL_A9NB

Biomolekulārie dati

Darbs ar

Culture Medium

DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glikozes, w: 2,5 mM L-glutamīna, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM nātrija piruvāta, w: 1,2 g/l NaHCO₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820400a)

L6565 Šūnas | 305189

Supplements Papildināt barotni ar 10% FBS, 0,005 mg/ml insulīna, 0,01 mg/ml cilvēka transferīna, 0,1 mM etanolamīna, 0,1 mM fosfoetanolamīna, 25 nM selēna, 500 nM hidroksikortizona, 0,005 mM forskolin, liellopu hipofīzes ekstraktu (0,15 mg olbaltumvielu uz ml)

Subculturing Viegli homogenizējiet šūnu suspensiju kolbā, pipetējot uz augšu un uz leju, pēc tam ņemiet reprezentatīvu paraugu, lai noteiktu šūnu blīvumu uz ml. Atšķaidiet suspensiju, lai sasniegtu šūnu koncentrāciju 5×10^5 šūnas/ml ar svaigu kultūras barotni, un sadaliet pielāgoto suspensiju jaunās kolbās turpmākai kultivēšanai.

Fluid renewal 2 līdz 3 reizes nedēļā

Freeze medium Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150°C , lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnēsiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar $300 \times g$ 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnēsiet vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

L6565 Šūnas | 305189

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, mitrināta atmosfēra.

Flask Coating Nevienš

Freezing Procedure Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Shipping Conditions Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole un molekulārā analīze

Sterility Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.