

Клеточная линия K562

Кат. # CL006S

Версия 1 от 17 октября 2022 г.

Клетки выделены из костного мозга 53-летней женщины с миелоидным лейкозом. Клеточная линия K562 подходит для изучения натуральных киллеров.

Состав

Состав	Кат. #	Количество
Клеточная линия K562	CL006S	1 криопробирка*

* Количество клеток в 1 криопробирке эквивалентно монослою, собранному с культурального флакона площадью 25 см².

Транспортировка: в сухом льду или жидком азоте при температуре не выше –70 °С. После получения незамедлительно извлечь замороженные клетки из транспортной упаковки и поместить их в пары жидкого азота (не выше –130 °С).

Хранение: в парах или жидкой фазе азота при температуре не выше –130 °С.

Срок годности: 24 месяца с даты поставки при соблюдении условий хранения и транспортировки.

Основные свойства

Организм: человек.

Тип клеток: лимфобласты.

Ткань: костный мозг.

Возраст: 53 года.

Пол: женский.

Тип роста культуры: суспензионная.

Заболевание: миелоидный лейкоз.

Результаты типирования линии по локусам коротких tandemных повторов (STR):

Локус	Аллель
Амелогенин	X, X
CSF1PO	9, 10
D13S317	18
D16S539	11, 12
D5S818	11, 12
D7S820	9, 11
TH01	9.3
TPOX	8, 9
vWA	16

Результат теста на наличие ДНК микоплазмы: отрицательный.

Результат получен с помощью набора Мусо Real-Time (Кат. # MR004, Евроген).

Условия культивирования: питательная среда RPMI-1640 (Roswell Park Memorial Institute 1640) с 10% эмбриональной телячьей сывороткой.

Условия пассирования: раствор 0.25% Трипсина с 0.53 мМ ЭДТА.

Реагенты для криоконсервации: эмбриональная телячья сыворотка с добавлением 20% DMSO.

1. Рекомендации по работе с клетками

Полная ростовая среда: питательная среда RPMI-1640 с добавлением эмбриональной телячьей сыворотки в объеме 10%.

► Во время восстановления клеток после разморозки важно соблюдать pH полной ростовой среды: от 7.0 до 7.6. Для этого заранее подготовьте необходимый объем полной ростовой среды и поместите ее в инкубатор не менее чем на 15 минут.

Условия культивирования:

- Пассивное увлажнение воздуха в инкубаторе, ежедневный контроль уровня воды (используйте стерилизованную, автоклавированную воду), ежемесячная деонтаминация инкубатора.
- Температура культивирования: +37 °С.
- Атмосфера: 95% воздух, 5% CO₂.

2. Вывод клеток из криоконсервации

- ▶ Для достижения наивысшего уровня жизнеспособности рекомендуется разморозить криопробирку с клетками и посеять их сразу после получения.
- 2.1. Разморозьте криопробирку, осторожно встряхивая ее на водяной бане при температуре 37 °С, в течение примерно 2 минут.
- ▶ Чтобы снизить вероятность загрязнения, держите уплотнительное кольцо и колпачок вдали от воды.
- 2.2. Удалите криопробирку из водяной бани, как только содержимое оттает, и проведите обеззараживание, погрузив или опрыскав ее 70% этиловым спиртом.
- ▶ Важно: далее все операции должны проводиться в строгих асептических условиях.
- 2.3. Перенесите содержимое криопробирки в центрифужную пробирку объемом 15 мл, содержащую 5 мл полной ростовой среды, и центрифугируйте при 125 g в течение 5 минут.
- 2.4. Аккуратно отберите и утилизируйте надосадочную жидкость.
- 2.5. Ресуспендируйте клеточный осадок с необходимым количеством полной ростовой среды (прогретой в инкубаторе, pH 7.0–7.6) и разлейте в культуральные флаконы.
- ▶ Для флаконов площадью 25 см² рекомендуется использовать 5 мл полной ростовой среды; для флаконов площадью 75 см² — 15 мл.
- 2.6. Поместите флакон с клетками в инкубатор для культивирования.

3. Пассирование

- ▶ Суспензионную культуру клеток можно поддерживать добавлением свежей полной ростовой среды или заменой старой.
Рекомендуемые условия пассирования: 2–4 раза в неделю, поддерживая плотность суспензии в диапазоне от 200 тысяч до 1 миллиона клеток/мл.
- 3.1. Для замены полной ростовой среды перенесите суспензию клеток в количестве от 1×10^5 до 2×10^6 в центрифужную пробирку объемом 15 мл, центрифугируйте суспензию при 125 g в течение 5 минут.
- 3.2. Отберите надосадочную жидкость, оставив 0.5 мл жидкости над осадком.
- 3.3. Ресуспендируйте клеточный осадок с необходимым количеством свежей полной ростовой среды, проведите подсчет клеток и перенесите соответствующее количество клеточной суспензии в культуральные флаконы.
- ▶ Рекомендуется использовать флаконы площадью 75 см².
- 3.4. Поместите флакон с клетками в инкубатор для культивирования.

4. Криоконсервация

- ▶ *Рекомендованное количество клеток для криоконсервации: объем суспензии клеток зависит от размера культурального флакона, рекомендованная плотность клеток: до 1×10^6 кл/мл.*
- 4.1. Перенесите суспензию клеток в центрифужную пробирку объемом 15 мл, центрифугируйте суспензию при 125 g в течение 5 минут.
- 4.2. Отберите надосадочную жидкость, оставив 0.5 мл жидкости над осадком.
- 4.3. Аккуратно встряхните пробирку, чтобы перемешать клеточный осадок с надосадочной жидкостью.
- 4.4. Перенесите клеточную суспензию в криопробирку и добавьте 0.5 мл раствора для криоконсервации, не ресуспендируя клетки.
- ▶ *Раствор для криоконсервации: эмбриональная телячья сыворотка с добавлением 20% DMSO.*
Допускается использование растворов с другими составами. В таких случаях условия восстановления клеток после криоконсервации могут быть изменены.
- 4.5. Перенесите криопробирки на $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$, затем, через сутки, в зависимости от предполагаемой длительности хранения, переместите их в пары или жидкую фазу азота.

ЗАО Евроген

Москва 117997

ул. Миклухо-Маклая 16/10, к. 15

Тел.: +7 (495) 784-7084

order@evrogen.ru

www.evrogen.ru