MEL-CLS-4 □□□□□

300128

□□□□

Incubation atmosphere	37°C, 5%CO2, บรรยากาศชื้น

Supplements

□ติมอาหาร □ลี้ยง □ชื้อด้วย FBS 10%

Dissociation reagent	แอคคู □ทส

Subculturing

นำ□อาหาร □ลี้ยง □ซลล์ □ก่าออกจาก □ซลล์ที่ □กาะติดและล้างด้วย PBS ที่ไม่มีแคล □ซียมและ แมกนี □ซียม □□□หรับขวด T25 ให้ใช้ PBS 3-5 มล . และ □□□หรับขวด T75 ให้ใช้ 5-10 มล . จาก □□□นปิด □ซลล์ ให้มิดด้วย Accutase โดยใช้ 1-2 มล . สำ□หรับขวด T25 และ 2.5 มล . สำ□หรับขวด T75ปล่อยให้ □ซลล์บ่มที่ อุณหภูมิห้อง □ป็น □วลา 8-10 นาที □พื่อให้ □ซลล์หลุดออกจากกัน หลังจากบ่มแล้ว ให้ผสม □ซลล์ □บา ๆ กับอาหาร □ลี้ยง □ซลล์ 10 มิลลิลิตร □พื่อทำให้ □ □ซลล์แขวนลอยอีกครั้ง จากนั้นปั่น □หวี่ยงที่ 300 □ท่าของแรงโน้มถ่วงโลก (300xg) □ป็น □วลา 3 นาที □ทส่วนใสที่ได้ทิ้งไป แล้วแขวนลอย □ซลล์ใน อาหาร □□ี □ยง □ซลล์ใหม่ จากนั้นถ่าย □ซลล์ไปยังขวด □พาะ □□□□ยงใหม่ □ี □□ติมอาหาร □□□□ยง □ซลล์ ใหม่ไว้แล้ว

Seeding density	1 x 10^4 □ซลล์ /ซม .^2
Fluid renewal	ทุก 3 วัน
Post-thaw recovery	หลังจากละลาย □□□□แข็งแล้ว ให้ □พาะ □ลี้ยง □ซลล์ในจาน □พาะ □ลี้ยงที่ความหนาแน่น 5 x 10⁴ □ซลล์ /ซม . และปล่อยให้ □ซลล์ฟื้น ตัวจากกระบวนการแช่แข็งและยืด □กาะกับพื้นผิว □ป็น □วลา อย่างน้อย 48 ชั่วโมง

Thawing and culturing

Confirm that the vial remains deeply frozen upon delivery, as cells are shipped on dry ice to maintain optimal temperatures during transit.

Upon receipt, either store the cryovial immediately at temperatures below -150°C to ensure the preservation of cellular integrity, or proceed to step 3 if immediate culturing is required.

For immediate culturing, swiftly thaw the vial by immersing it in a 37°C water bath with clean water and an antimicrobial agent, agitating gently for 40-60 seconds until a small ice clump remains.

Perform all subsequent steps under sterile conditions in a flow hood, disinfecting the cryovial with 70% ethanol before opening.

Carefully open the disinfected vial and transfer the cell suspension into a 15 ml centrifuge tube containing 8 ml of room-temperature culture medium, mixing gently.

Centrifuge the mixture at 300 x g for 3 minutes to separate the cells and carefully discard the supernatant containing residual freezing medium.

Gently resuspend the cell pellet in 10 ml of fresh culture medium. For adherent cells, divide the suspension between two T25 culture flasks; for suspension cultures, transfer all the medium into one T25 flask to promote effective cell interaction and growth.

Adhere to established subculture protocols for continued growth and maintenance of the cell line, ensuring reliable experimental outcomes.

QUALITY CONTROL AND CRYOPRESERVATION

Sterility

การปน □ปื้อนของไมโคพลาสมาถูกตัดออกโดยใช้ทั้งการทดสอบแบบ PCR และการตรวจหาไมโคพลาสมาโดย ใช้วิธีการ □รืองแสง
□พื่อให้แน่ใจว่าไม่มีการปน □ปื้อนของแบคที □รีย □ชื้อรา หรือยีสต์ การ □พาะ □ลี้ยง □ซลล์จะ ถูกตรวจสอบด้วยสายตาทุกวัน

Freeze medium	ในฐานะที่ □ป็นสารอาหารสำหรับการแช่□แข็ง □ราใช้สารอาหาร สำ□หรับการ □จริญ □ติบโตแบบครบถ้วน (รวมถึง FBS) + 10% DMSO □พื่อความมีชีวิตหลังการละลายที่ □พียงพอ หรือ CM-1 (หมาย □ลข แคตตาล็อก Cytion 800100) ซึ่งรวมถึงสารป้องกันออสโมติกและสาร รักษา □สถียรภาพ □มตาบอลิซึมที่ได้รับการปรับให้ □หมาะสม □พื่อ □พิ่มการฟื้นตัวและลดความ □ครียดที่ □กิดจากการแช่ แข็ง

Cytion GmbH
Nikola-Tesla-Str. 3
69124 Heidelberg
Tel: +49 (0)6221 405780
info@cytion.com
cytion.com

Registered office Heidelberg
VAT ID: DE283292917
Local court Mannheim - HRB 714394
CEO / Geschäftsführer: Jonathan Steubing

Banking information
Sparkasse Heidelberg
IBAN: DE35 6725 0020 0009 2076 86
BIC: SOLADES1HDB

2 / 3

Storage conditions

□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□ □□□□□□□□□□□□□□□□□□□□