

Клетки NR8383 | 305200

Обща информация

Description Клетките са култивирани в присъствието на кондиционирана среда от белодробни клетки на гербил в продължение на приблизително 8-9 месеца. Впоследствие изискването за екзогенни растежни фактори е отпаднало. Клетките показват характеристики на макрофаги. Фагоцитоза на зимозан и *Pseudomonas aeruginosa*, неспецифична естеразна активност, Fc рецептори, оксидативен взрив, секреция на IL-1, TNF beta и IL-6 и репликативен отговор на екзогенни растежни фактори. Клетките реагират на подходящи микробни, частични или разтворими стимули с фагоцитоза и убиване. Клетките NR8383 реагират на блеомицин чрез секретиране на латентен трансформиращ растежен фактор (TGF beta). Стимулирането с блеомицин също така увеличава експресията на TGF beta mRNA. Тези клетки са чувствителни към ендотоксин. Нивата на LPS от 1 до 10 ng/mL инхибират репликацията с 50%. Инхибирането на LPS е нетоксично и обратимо дори след нива до 0,001mg/mL за продължителни периоди.

Organism Плъх

Tissue Бял дроб

Synonyms NR-8383, NR 8383, NR8383.1, NR8383 клонинг AgC11x3A, AgC11x3A, нормален плъх, 3 август 1983 г

Характеристики

Breed/Subspecies Sprague Dawley

Age Възрастни

Gender Мъжки

Morphology Макрофаги

Growth properties Прилепване/суспензия

Регулаторни данни

Citation NR8383 (каталожен номер 305200 на Cytion)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10116

CellSaurusAccession CVCL_4396

Клетки NR8383 | 305200

Биомолекулярни данни

Receptors expressed Fc**Protein expression** Трансформиращ растежен фактор Бета (Tgf Beta), интерлевкин 1 (Il-1), интерлевкин 6 (Il-6)

Работа с

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM стабилен глутамин, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (номер на статията в Cytion 820700a)**Supplements** Допълнете средата с 15 % топлинно инактивиран FBS**Dissociation Reagent** Accutase, само на прилепналите клетки, плаващите клетки трябва да се събират отделно.**Subculturing** Съберете суспендираните клетки в 15-милилитрова епруветка и внимателно промийте прилепналите клетки с PBS без калций и магнезий (използвайте 3-5 ml за колби T25 и 5-10 ml за колби T75). Нанесете Accutase (1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75), като се уверите, че покрива изцяло клетъчния слой. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 10 минути. След инкубацията комбинирайте и центрофугирайте суспензията и адхезивните клетки. След центрофугирането внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета и прехвърлете клетъчната суспензия в нови колби, съдържащи свежа среда.**Split ratio** от 1:2 до 1:4**Fluid renewal** 2 до 3 пъти седмично**Freeze medium** Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки NR8383 | 305200

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикуробен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

Няма

Freezing Procedure

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки NR8383 | 305200

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196°C . Съхранението при -80°C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.