

Клетки NRK-IBB-DiHcRed1 | 500671

Обща информация

Description

NRK-IBB-DiHcRed1 е модифицирана клетъчна линия, получена от нормални плъши бъбречни клетки (NRK), разработена така, че да експресира червения флуоресцентен протеин DiHcRed1. Тази модификация позволява на изследователите да проследяват и визуализират клетъчните процеси в реално време с помощта на флуоресцентна микроскопия. Стабилната червена флуоресценция е идеална за изобразяване на живи клетки, което улеснява изследванията на клетъчната миграция, делене и морфология.

Клетъчната линия запазва типичните характеристики на NRK клетките, включително епителноподобна морфология и нормална пролиферация, което я прави надежден модел за изучаване на поведението на клетките на бозайници. Червената флуоресценция също така позволява мултиплексиране с други маркери, което подобрява използването ѝ в клетъчната биология, изследванията на рака и скрининга на лекарства.

Organism

Плъх

Tissue

Бъбреци

Synonyms

NRK IBB-DiHcRed1

Характеристики

Breed/Subspecies

OsborneMendel

Morphology

Фибробластоподобни клетки с фузиформена форма

Growth properties

Монослой, прилепнал

Регулаторни данни

Citation

NRK-IBB-DiHcRed1 (каталожен номер 500671 на Cytion)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

10116

CellosaurusAccession

CVCL_AV95

Depositor

Лабораторията на Елнбърг (EMBL)

Клетки NRK-IBB-DiHcRed1 | 500671**Биомолекулярни данни**

Receptors expressed	Епидермален растежен фактор (EGF), стимулираща мултипликацията активност (MSA)
Protein expression	IBB-DiHcRed1: Местоположение/ген: 1..589 / Pcmv, 656..916 / IBB, 932..1615 , 1670..2356 / HcRed1, 3587..4381 / KanR/NeoR
Products	CMV Promotor IBB (Ribbeck & Gorlich 2002), неомицин, фосфотрансфераза, епидермален растежен фактор, стимулираща мултипликацията активност

Работа с

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L глюкоза, w: 4 mM L-глутамин, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM натриев пируват (номер на изделието на Cytion 820300a)
Supplements	Допълнете средата с 10% FBS, 0,5 mg/ml G418
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Изхвърлете старата среда и промийте клетките с PBS. Добавете прясно приготвен 0,025% разтвор на трипсин/0,02% EDTA, загрят до 37 градуса по Целзий, и изчакайте, докато клетките се отделят, което обикновено отнема около 5 минути. Неутрализирайте трипсина, като добавите прясна среда, след което прехвърлете клетъчната смес в епруветка и центрофугирайте. След центрофугирането отстранете супернатантата, ресуспендирайте клетъчната пелета в прясна хранителна среда и прехвърлете суспензията в нови колби. Включете G418 в хранителната среда, за да достигнете крайна концентрация от 0,5 mg/ml
Split ratio	Препоръчва се съотношение от 1:3 до 1:4
Seeding density	2 до 4 x 10 ⁴ клетки/cm ²
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 NRK-IBB-DiHcRed1 | 500671**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 антимикробен 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°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 NRK-IBB-DiHcRed1 | 500671

Shipping Conditions

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.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$. Съхранението при $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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.