Product sheet

NR8383 Buňky | 305200

Obecné informace

Description	Buňky byly kultivovány v přítomnosti kondicionovaného média gerbilních plicních buněk po dobu přibližně 8 až 9 měsíců.Následně došlo ke ztrátě potřeby exogenních růstových faktorů.Buňky vykazují vlastnosti makrofágů.Fagocytóza zymosanu a Pseudomonas aeruginosa, nespecifická esterázová aktivita, Fc receptory, oxidativní výbuch, sekrece IL-1, TNF beta a IL-6 a replikační odpověď na exogenní růstové faktory.Buňky reagují na příslušné mikrobiální, částicové nebo rozpustné podněty fagocytózou a usmrcením. buňky NR8383 reagují na bleomycin sekrecí latentního transformujícího růstového faktoru (TGF beta). stimulace bleomycinem také zvyšuje expresi mRNA TGF beta. tyto buňky jsou citlivé na endotoxin. hladiny LPS 1 až 10 ng/ml inhibují replikaci o 50 %. inhibice LPS je netoxická a reverzibilní i po hladinách až 0,001 mg/ml po delší dobu.
Organism	Krysy
Tissue	Plíce
Synonyms	NR-8383, NR 8383, NR8383.1, NR8383 klon AgCl1x3A, AgC11x3A, normální krysa, 3. srpna 1983

Charakteristika

Breed/Subspecies	Sprague Dawley
Age	Dospělí
Gender	Muži
Morphology	Makrofágy
Growth properties	Přilnavost/suspenze

Regulační údaje

Citation	NR8383 (katalogové číslo Cytion 305200)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10116
CellosaurusAccession	CVCL_4396

Biomolekulární data

NR8383 Buňky | 305200

Receptors expressed	Fc
Protein expression	Transformující růstový faktor Beta (Tgf Beta), interleukin 1 (Il-1), interleukin 6 (Il-6)

Zpracování

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilní glutamin, w: 2,0 g/l NaHCO3 (číslo výrobku Cytion 820700a)
Supplements	Doplňte médium o 15 % tepelně inaktivovaného FBS
Dissociation Reagent	Accutase, pouze z adherentních buněk, plovoucí buňky musí být odebrány odděleně.
Subculturing	Shromážděte suspenzi buněk do 15 ml zkumavky a jemně promyjte adherentní buňky PBS bez vápníku a hořčíku (použijte 3-5 ml pro baňky T25 a 5-10 ml pro baňky T75). Aplikujte Accutase (1-2 ml pro baňky T25, 2,5 ml pro baňky T75), abyste zajistili úplné pokrytí buněčné vrstvy. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 10 minut. Po inkubaci spojte a odstřeďte suspenzi i adherované buňky. Po odstředění opatrně resuspendujte buněčnou peletu a přeneste buněčnou suspenzi do nových baněk obsahujících čerstvé médium.
Split ratio	1:2 až 1:4
Fluid renewal	2 až 3krát týdně
Freeze medium	Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

NR8383 Buňky | 305200

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmražená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstřeďujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, zvlhčená atmosféra.
Flask Coating	Žádný
Freezing Procedure	Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.
Shipping Conditions	Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Storage Conditions	Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality a molekulární analýza

Sterility	Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy. Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.