

NRK-IBB-DiHcRed1-celler | 500671

Generel information

Description

NRK-IBB-DiHcRed1 er en modificeret cellelinje, der stammer fra normale rottenyreceller (NRK), som er konstrueret til at udtrykke det røde fluorescerende protein DiHcRed1. Denne modifikation gør det muligt for forskere at spore og visualisere cellulære processer i realtid ved hjælp af fluorescensmikroskopi. Den stabile røde fluorescens er ideel til billeddannelse af levende celler, hvilket letter undersøgelser af cellemigration, celledeling og morfologi.

Cellelinjen bevarer de typiske egenskaber ved NRK-celler, herunder epitellignende morfologi og normal proliferation, hvilket gør den til en pålidelig model til undersøgelse af pattedyrscellers adfærd. Den røde fluorescens giver også mulighed for multiplexing med andre markører, hvilket forbedrer brugen af den i cellebiologi, kræftforskning og screening af lægemidler.

Organism Rotte

Tissue Nyre

Synonyms NRK IBB-DiHcRed1

Karakteristika

Breed/Subspecies OsborneMendel

Morphology Fibroblastlignende celler med fusiform form

Growth properties Monolag, klæbende

Regulatoriske data

Citation NRK-IBB-DiHcRed1 (Cytion katalognummer 500671)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10116

CellosaurusAccession CVCL_AV95

Depositor Ellenberg-laboratoriet (EMBL)

Biomolekylære data

NRK-IBB-DiHcRed1-celler | 500671

Receptors expressed	Epidermal vækstfaktor (EGF), multiplikationsstimulerende aktivitet (MSA)
Protein expression	IBB-DiHcRed1: Placering/gen: 1..589 / Pcmv, 656..916 / IBB, 932..1615 , 1670..2356 / HcRed1, 3587..4381 / KanR/NeoR
Products	CMV Promotor IBB (Ribbeck & Gorlich 2002), neomycin, fosfotransferase, epidermal vækstfaktor, multiplikationsstimulerende aktivitet

Håndtering

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glukose, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)
Supplements	Suppler mediet med 10% FBS, 0,5 mg/mL G418
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Kassér det gamle medium, og vask cellerne med PBS. Tilsæt en frisklavet 0,025 % trypsin/0,02 % EDTA-opløsning, der er opvarmet til 37 grader Celsius, og vent, indtil cellerne løsner sig, hvilket normalt tager ca. 5 minutter. Neutraliser trypsinen ved at tilsætte frisk medium, overfør derefter celleblandingen til et rør og centrifuger. Efter centrifugering fjernes supernatanten, cellepelleten resuspenderes i frisk dyrkningsmedium, og suspensionen overføres til nye kolber. Tilsæt G418 til dyrkningsmediet for at opnå en endelig koncentration på 0,5 mg/ml
Split ratio	Det anbefales at bruge et forhold på 1:3 til 1:4
Seeding density	2 til 4×10^4 celler/cm ²
Fluid renewal	2 til 3 gange om ugen
Freeze medium	Som kryopræservesmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.

NRK-IBB-DiHcRed1-celler | 500671

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befugtet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

NRK-IBB-DiHcRed1-celler | 500671

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.