

Κύτταρα NRK-IBB-DiHcRed1 | 500671

Γενικές πληροφορίες

Description

Η NRK-IBB-DiHcRed1 είναι μια τροποποιημένη κυτταρική σειρά που προέρχεται από κύτταρα φυσιολογικού νεφρού αρουραίου (NRK), κατασκευασμένη έτσι ώστε να εκφράζει την κόκκινη φθορίζουσα πρωτεΐνη DiHcRed1. Αυτή η τροποποίηση επιτρέπει στους ερευνητές να παρακολουθούν και να απεικονίζουν κυτταρικές διεργασίες σε πραγματικό χρόνο με τη χρήση μικροσκοπίας φθορισμού. Ο σταθερός κόκκινος φθορισμός είναι ιδανικός για την απεικόνιση ζωντανών κυττάρων, διευκολύνοντας μελέτες σχετικά με τη μετανάστευση, τη διαίρεση και τη μορφολογία των κυττάρων.

Η κυτταρική σειρά διατηρεί τα τυπικά χαρακτηριστικά των κυττάρων NRK, συμπεριλαμβανομένης της επιθηλιοειδούς μορφολογίας και του φυσιολογικού πολλαπλασιασμού, καθιστώντας την ένα αξιόπιστο μοντέλο για τη μελέτη της συμπεριφοράς των κυττάρων θηλαστικών. Ο κόκκινος φθορισμός επιτρέπει επίσης την πολυπλεξία με άλλους δείκτες, ενισχύοντας τη χρήση της στην κυτταρική βιολογία, την έρευνα για τον καρκίνο και τον έλεγχο φαρμάκων.

Organism Αρουραίος

Tissue Νεφρός

Synonyms NRK IBB-DiHcRed1

Χαρακτηριστικά

Breed/Subspecies OsborneMendel

Morphology Κύτταρα που μοιάζουν με ινοβλάστες και έχουν φουσκοειδές σχήμα

Growth properties Μονοστρωματική, προσκολλημένη

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation NRK-IBB-DiHcRed1 (αριθμός καταλόγου Cytion 500671)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10116

CellosaurusAccession CVCL_AV95

Depositor Εργαστήριο Ellenberg (EMBL)

Κύτταρα NRK-IBB-DiHcRed1 | 500671

Βιομοριακά δεδομένα

| | |
|----------------------------|---|
| Receptors expressed | Επιδερμικός αυξητικός παράγοντας (EGF), δραστηριότητα διέγερσης του πολλαπλασιασμού (MSA) |
| Protein expression | IBB-DiHcRed1: 589 / Pcmv, 656..916 / IBB, 932..1615 , 1670..2356 / HcRed1, 3587..4381 / KanR/NeoR |
| Products | CMV Promotor IBB (Ribbeck & Gorlich 2002), Νεομυκίνη, Φωσφοτρανσφεράση, Επιδερμικός αυξητικός παράγοντας, δραστηριότητα διέγερσης πολλαπλασιασμού |

Χειρισμός

| | |
|-----------------------------|---|
| Culture Medium | DMEM, w: 4,5 g/L γλυκόζη, w: 4 mM L-γλουταμίνη, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM πυρροβικό νάτριο (αριθμός άρθρου Cytion 820300a) |
| Supplements | Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS, 0,5 mg/mL G418 |
| Dissociation Reagent | Accutase |
| Subculturing | Απορρίψτε το παλιό μέσο και πλύνετε τα κύτταρα με PBS. Προσθέστε ένα φρεσκοπαρασκευασμένο διάλυμα θρυψίνης 0,025%/0,02% EDTA θερμαινόμενο στους 37 βαθμούς Κελσίου και περιμένετε μέχρι να αποκολληθούν τα κύτταρα, το οποίο συνήθως διαρκεί περίπου 5 λεπτά. Εξουδετερώστε τη θρυψίνη προσθέτοντας φρέσκο μέσο, στη συνέχεια μεταφέρετε το μείγμα κυττάρων σε ένα σωληνάριο και φυγοκεντρίστε. Μετά τη φυγοκέντρηση, αφαιρέστε το υπερκείμενο υγρό, ανασυσταθείτε το κυτταρικό σφαιρίδιο σε φρέσκο μέσο καλλιέργειας και μεταφέρετε το εναιώρημα σε νέες φιάλες. Ενσωματώστε το G418 στο μέσο καλλιέργειας ώστε να επιτευχθεί τελική συγκέντρωση 0,5 mg/ml |
| Split ratio | Συνιστάται αναλογία 1:3 έως 1:4 |
| Seeding density | 2 έως 4 x 10 ⁴ κύτταρα/cm ² |
| Fluid renewal | 2 έως 3 φορές την εβδομάδα |
| Freeze medium | Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση. |

Κύτταρα NRK-IBB-DiHcRed1 | 500671**Thawing and
Culturing Cells**

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρουφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρουφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Κανένα

**Freezing
Procedure**

Οι κρουσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Κύτταρα NRK-IBB-DiHcRed1 | 500671

Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196°C . Η αποθήκευση στους -80°C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

Sterility

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.