

NR8383 Rakud | 305200

Üldine teave

Description Rakke kasvatati gerberi kopsurakkude konditsioneeritud keskkonnas ligikaudu 8-9 kuud. Seejärel kaotati vajadus eksogeensete kasvufaktorite järele. Rakkudel on makrofaagirakkude omadused. Zümosaani ja Pseudomonas aeruginosa fagotsütoos, mittespetsiifiline esteraasi aktiivsus, Fc retseptorid, oksüdatiivne pursk, IL-1, TNF beeta ja IL-6 sekretsioon ning replikatiivne vastus eksogeensetele kasvufaktoritele. Rakud reageerivad sobivatele mikroobsetele, tahkete või lahustuvate stiimulitele fagotsütoosi ja tapmisega. NR8383 rakud reageerivad bleomütsiinile latentse transformeeriva kasvufaktori (TGF beeta) sekretsiooniga. Bleomütsiini stimuleerimine suurendab ka TGF beeta mRNA ekspressiooni. Need rakud on tundlikud endotoksiini suhtes. LPS tasemed 1 kuni 10 ng/ml inhibeerivad replikatsiooni 50% võrra. LPS inhibeerimine on mittetoksiline ja pöörduv isegi pärast tasemeid kuni 0,001mg/ml pikema aja jooksul.

Organism Rott

Tissue Kopsud

Synonyms NR-8383, NR 8383, NR8383.1, NR8383 kloon AgC11x3A, AgC11x3A, normaalne rott, 3. august 1983

Omadused

Breed/Subspecies Sprague Dawley

Age Täiskasvanud

Gender Mees

Morphology Makrofaagid

Growth properties Kinni jääv/suspensioon

Regulatiivsed andmed

Citation NR8383 (Cytioni katalooginumber 305200)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10116

CellosaurusAccession CVCL_4396

Biomolekulaarsed andmed

NR8383 Rakud | 305200

Receptors expressed Fc**Protein expression** Transformeeriv kasvufaktor beeta (Tgf beeta), interleukiin 1 (Il-1), interleukiin 6 (Il-6)**Töötlemine****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytioni artikli number 820700a)**Supplements** Täiendatakse keskkonda 15% soojusinaktiveeritud FBS-iga**Dissociation Reagent** Accutase, ainult kleepuvatest rakkudest, ujuvad rakud tuleb koguda eraldi.**Subculturing** Koguge suspensioonirakud 15 ml tuubi ja peske kleepunud rakud ettevaatlikult PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium (kasutage 3-5 ml T25 kolbide puhul ja 5-10 ml T75 kolbide puhul). Kandke Accutase'i (1-2 ml T25 kolvidesse, 2,5 ml T75 kolvidesse), tagades rakukihhi täieliku katvuse. Laske rakkudel 10 minutit toatemperatuuril inkubeerida. Pärast inkubeerimist ühendage ja tseentrifuugige nii suspensioon kui ka adherentsed rakud. Pärast tseentrifuugimist resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult ja kandke rakususpensioon uutesse kolvidesse, mis sisaldavad värsket söötmeainet.**Split ratio** 1:2 kuni 1:4**Fluid renewal** 2 kuni 3 korda nädalas**Freeze medium** Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

NR8383 Rakud | 305200

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

**Freezing
Procedure**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Shipping
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

NR8383 Rakud | 305200

**Storage
Conditions**

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.