

NRK-52E rakud | 305196

Üldine teave

Description

NRK-52E rakuliin, mis on saadud roti normaalsest neerust, on epitelioidne rakuliin, mis esindab proksimaalse tubulaarse epiteeli rakke. Seda rakuliini kasutatakse laialdaselt nefroloogiuuringutes, eriti neerufüsioloogia, toksikoloogia ja patofüsioloogia uuringutes. NRK-52E rakkudel on iseloomulik epiteeli morfoloogia koos tihedate ühenduskohtadega, mistõttu sobivad nad neerutorukeste funktsiooni ja barjääri terviklikkuse in vitro modelleerimiseks.

NRK-52E rakud on aidanud uurida apoptoosi, raku parandamise ja ioonitranspordi mehhanisme. Näiteks on seda rakuliini kasutatud valgufosfataasi inhibiitori okadaaiinhappe mõju uurimiseks, mis näitas selle rolli apoptootiliste radade esilekutsumisel, mis hõlmavad kromatiini kondenseerumist, kaltsiumi sissevoolu ja mitokondriaalseid muutusi. Need uuringud on andnud ülevaate neerurakkude surma ja ellujäämismehhanismide regulatsioonist vigastuse või haiguse ajal.

Lisaks on NRK-52E rakke kasutatud neeruepiteeli ioonitranspordi ja barjääri omaduste hindamiseks erinevates katseseadeldistes, näiteks füsioloogilisi voolutingimusi jäljendavates mikrofluidilistes süsteemides. See hõlmab naatriumkloriidi reabsorptsiooni ja transepitelialise elektritakistuse uurimist, mis on kriitilise tähtsusega elektrolüütide ja vee tasakaalu mõistmiseks neerufüsioloogias. Need omadused teevad NRK-52E-st tugeva mudeli neerutorude rakkude bioloogia ja terapeutiliste sekkumiste uurimiseks neeruhaiguste puhul.

Organism Rott

Tissue Neerud

Synonyms NRK 52E, NRK52E, NRK kloon 52E, Normaalne rottneerik-52E, NRK-E52

Omadused

Breed/Subspecies Osborne-Mendel

Morphology Epiteel

Growth properties Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation NRK-52E (Cytioni katalooginumber 305196)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10116

NRK-52E rakud | 305196

CellosaurusAccession CVCL_0468

Biomolekulaarsed andmed

Töötlemine

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glükoosi, w: 2,5 mM L-glutamiini, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM naatriumpüruvaati, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (Cytioni artikli number 820400a)

Supplements Täiendada söötme 10% FBS-ga

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Eemaldage kleepunud rakkudel vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifugeerige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.

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 katalooginumbriga 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

NRK-52E rakud | 305196

**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.

NRK-52E rakud | 305196

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.