

NRK-IBB-DiHcRed1 rakud | 500671

Üldine teave

Description

NRK-IBB-DiHcRed1 on modifitseeritud rakuliin, mis on saadud normaalsetest roti neerurakkudest (NRK), mis on loodud punase fluorestseeruva valguga DiHcRed1 ekspresseerimiseks. See modifikatsioon võimaldab teadlastel jälgida ja visualiseerida rakuprotsesse reaajas fluorestsentsmikroskoopia abil. Stabiilne punane fluorestsents on ideaalne elusraku kujutamiseks, mis hõlbustab rakkude rände, jagunemise ja morfoloogia uuringuid.

Rakuliin säilitab NRK rakkude tüüpilised omadused, sealhulgas epiteelilaadse morfoloogia ja normaalse proliferatsiooni, mis teeb sellest usaldusväärse mudeli imetajarakkude käitumise uurimiseks. Punane fluorestsents võimaldab ka multipleksimist teiste markeritega, mis suurendab selle kasutamist rakubioloogias, vähiuuringutes ja ravimite skriiningus.

Organism Rott

Tissue Neerud

Synonyms NRK IBB-DiHcRed1

Omadused

Breed/Subspecies OsborneMendel

Morphology Fibroblastitaolised fusiformse kujuga rakud

Growth properties Monokihiline, kleepuv

Regulatiivsed andmed

Citation NRK-IBB-DiHcRed1 (Cytioni katalooginumber 500671)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10116

CellosaurusAccession CVCL_AV95

Depositor Ellenbergi labor (EMBL)

Biomolekulaarsed andmed

NRK-IBB-DiHcRed1 rakud | 500671

Receptors expressed Epidermise kasvufaktor (EGF), paljunemist stimuleeriv toime (MSA)

Protein expression IBB-DiHcRed1: 1..589 / Pcmv, 656..916 / IBB, 932..1615 , 1670..2356 / HcRed1, 3587..4381 / KanR/NeoR

Products CMV Promotor IBB (Ribbeck & Gorlich 2002), neomütsiin, fosfotransferaas, epidermaalne kasvufaktor, paljunemist stimuleeriv aktiivsus

Töötlemine

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L glükoosi, w: 4 mM L-glutamiini, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM naatriumpüruvaati (Cytioni artikli number 820300a)

Supplements Täiendada söötme 10% FBS, 0,5 mg/ml G418-ga

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Visake vana söötme ära ja peske rakud PBSiga. Lisage värskelt valmistatud 0,025% trüpsiini/0,02% EDTA lahust, mida on kuumutatud 37 kraadini, ja oodake, kuni rakud eralduvad, mis tavaliselt võtab umbes 5 minutit. Neutraliseerige trüpsiin, lisades värsket keskkonda, seejärel viige rakusegu katseklaasi ja tsentrifuugige. Pärast tsentrifuugimist eemaldage supernatant, resuspenseerige rakupellet värskes söötmes ja viige suspensioon uutesse kolvidesse. Lisage G418 kultuurikeskkonda, et saavutada lõppkontsentratsioon 0,5 mg/ml

Split ratio Soovitav on suhe 1:3 kuni 1:4

Seeding density 2 kuni 4×10^4 rakku/cm²

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.

NRK-IBB-DiHcRed1 rakud | 500671

**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-IBB-DiHcRed1 rakud | 500671

**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.