Product sheet

NR8383 Solut | 305200

Yleisiä tietoja

Description	Soluja kasvatettiin gerbiilin keuhkosolujen ehdollistetun väliaineen läsnäollessa noin 8-9 kuukauden ajan.Tämän jälkeen eksogeenisten kasvutekijöiden tarve hävisi.Soluilla on makrofagisolujen ominaisuuksia: zymosaanin ja Pseudomonas aeruginosan fagosytointi, epäspesifinen esteraasiaktiivisuus, Fc-reseptorit, oksidatiivinen purkaus, IL-1:n, TNF-beta:n ja IL-6:n eritys sekä replikatiivinen vaste eksogeenisille kasvutekijöille.Solut reagoivat sopiviin mikrobiperäisiin, partikkelimaisiin tai liukoisiin ärsykkeisiin fagosytoosilla ja tappamisella.NR8383-solut reagoivat bleomysiiniin erittämällä piilevää transformoivaa kasvutekijää (TGF beeta).Bleomysiinillä stimulointi lisää myös TGF beeta -mRNA:n ilmentymistä.Nämä solut ovat herkkiä endotoksiinille.LPS-tasot, jotka ovat 1-10 ng/mL, estävät replikaation 50 %:lla.LPS:n inhibitio ei ole myrkyllinen eikä se ole palautuva, vaikka se olisi ollut jopa 0,001 mg/mL:n pitoisuuksissa pitkiä aikoja.
Organism	Rotta
Tissue	Keuhkot
Synonyms	NR-8383, NR 8383, NR8383.1, NR8383-klooni AgCl1x3A, AgC11x3A, normaali rotta, 3. elokuuta 1983

Ominaisuudet

Breed/Subspecies	Sprague Dawley
Age	Aikuiset
Gender	Mies
Morphology	Makrofagit
Growth properties	Tarttuva/riippuvainen

Sääntelytiedot

Citation	NR8383 (Cytionin luettelonumero 305200)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10116
CellosaurusAccession	CVCL_4396

Biomolekyylitiedot

NR8383 Solut | 305200

Receptors expressed	Fc
Protein expression	Transformoiva kasvutekijä beeta (Tgf Beta), interleukiini 1 (Il-1), interleukiini 6 (Il-6)

Käsittely

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilia glutamiinia, w: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytionin artikkelinumero 820700a)
Supplements	Täydennetään elatusainetta 15 % lämpöinaktivoidulla FBS:llä
Dissociation Reagent	Accutase, vain tarttuvat solut, kelluvat solut on kerättävä erikseen.
Subculturing	Kerää suspensiosolut 15 ml:n putkeen ja pese kiinni olevat solut varovasti PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia (3-5 ml T25-pulloissa ja 5-10 ml T75-pulloissa). Levitä Accutasea (1-2 ml T25-pulloihin, 2,5 ml T75-pulloihin) varmistaen, että solukerros peittyy kokonaan. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 10 minuuttia. Inkuboinnin jälkeen yhdistetään ja sentrifugoidaan sekä suspensio että adherentit solut. Sentrifugoinnin jälkeen solupelletti suspendoidaan varovasti uudelleen ja siirretään solususpensio uusiin pulloihin, jotka sisältävät tuoretta väliaineita.
Split ratio	1:2 – 1:4
Fluid renewal	2-3 kertaa viikossa
Freeze medium	Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

NR8383 Solut | 305200

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädytettynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.

2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.

3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.

4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista.

5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.

6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.

7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.

8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, kostutettu ilmakehä.
Flask Coating	Ei mitään
Freezing Procedure	Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.
Shipping Conditions	Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Storage Conditions	Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen typpeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen typpeen.

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi

Sterility	Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä. Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.