

NRK-52E-solut | 305196

Yleisiä tietoja

Description

NRK-52E-solulinja, joka on peräisin rotan normaalista munuaisesta, on epiteelidoinen solulinja, joka edustaa proksimaalisia tubulaarisia epiteelisoluja. Tätä solulinjaa käytetään laajalti nefrologisessa tutkimuksessa, erityisesti munuaisten fysiologiaa, toksikologiaa ja patofysiologiaa koskevissa tutkimuksissa. NRK-52E-soluilla on tyypillinen epiteelimorfologia, jossa on tiukkoja liitoksia, minkä vuoksi ne soveltuvat munuaistubulusten toiminnan ja esteen eheyden in vitro -mallinnukseen.

NRK-52E-solut ovat olleet tärkeitä apoptoosin, solujen korjautumisen ja ionien kuljetuksen mekanismien tutkimisessa. Solulinjaa on esimerkiksi käytetty proteiinifosfataasin estäjän okadahapon vaikutusten tutkimiseen, jolloin on paljastunut sen rooli apoptoosireittien indusoimisessa, johon liittyy kromatiinin tiivistymistä, kalsiumin sisäänvirtausta ja mitokondriomuutoksia. Nämä tutkimukset ovat antaneet tietoa munuaissolujen kuoleman ja eloonjäämismekanismien säätelystä vamman tai sairauden aikana.

Lisäksi NRK-52E-soluja on käytetty munuaisten epiteelin ionikuljetus- ja esteominaisuuksien arviointiin erilaisissa koejärjestelyissä, kuten fysiologisia virtausolosuhteita jäljittelevissä mikrofluidisissa järjestelmissä. Tähän sisältyy natriumkloridin takaisinimeytymisen ja transepitelialaisen sähköisen resistanssin tutkimus, jotka ovat ratkaisevia munuaisten fysiologian elektrolyytti- ja vesitasapainon ymmärtämisen kannalta. Nämä ominaisuudet tekevät NRK-52E:stä vankan mallin munuaistubulussolujen biologian ja munuaissairauksien terapeuttisten toimenpiteiden tutkimiseen.

Organism Rotta

Tissue Munuaiset

Synonyms NRK 52E, NRK52E, NRK-klooni 52E, Normaali rotanmunuainen-52E, NRK-E52

Ominaisuudet

Breed/Subspecies Osborne-Mendel

Morphology Epiteeli

Growth properties Tarttuva

Säätelytiedot

Citation NRK-52E (Cytionin luettelonumero 305196)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10116

NRK-52E-solut | 305196

CellosaurusAccession CVCL_0468

Biomolekyylitiedot

Käsittely

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glukoosia, w: 2,5 mM L-glutamiinia, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natriumpyruvaattia, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (Cytionin artikkelinumero 820400a)

Supplements Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo 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 osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

NRK-52E-solut | 305196

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se $37\text{ }^{\circ}\text{C}$:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä 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 $300 \times g$: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

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Ei mitään

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

NRK-52E-solut | 305196

**Storage
Conditions**

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

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.