Product sheet

NR8383 sejtek | 305200

Általános információk

Description	A sejteket körülbelül 8-9 hónapig tenyésztették a gerbil tüdősejtek kondicionált táptalajának jelenlétében.Ezt követően az exogén növekedési faktorok iránti igényük megszűnt.A sejtek a makrofág sejtek jellemzőit mutatják: a zimozán és a Pseudomonas aeruginosa fagocitózisa, a nem specifikus esteráz aktivitás, az Fc receptorok, az oxidatív robbanás, az IL-1, TNF béta és IL-6 kiválasztása, valamint az exogén növekedési faktorokra adott replikatív válasz.A sejtek a megfelelő mikrobiális, részecske vagy szolubilis ingerekre fagocitózissal és öléssel reagálnak.Az NR8383 sejtek a bleomicinre látens transzformáló növekedési faktor (TGF béta) szekréciójával reagálnak.A bleomicinnel való stimuláció a TGF béta mRNS expressziót is növeli.Ezek a sejtek érzékenyek az endotoxinra.Az 1-10 ng/ml LPS szintek 50%-kal gátolják a replikációt.Az LPS gátlás nem toxikus és reverzibilis még 0,001mg/ml szintek után is hosszabb ideig.
Organism	Patkány
Tissue	Tüdő
Synonyms	NR-8383, NR 8383, NR8383.1, NR8383 klón AgCl1x3A, AgC11x3A, Normál patkány, 1983. augusztus 3

Jellemzők

Breed/Subspecies	Sprague Dawley
Age	Felnőtt
Gender	Férfi
Morphology	Makrofágok
Growth properties	Tapadó/felfüggesztés

Szabályozási adatok

Citation	NR8383 (Cytion katalógusszám: 305200)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10116
CellosaurusAccession	CVCL_4396

Biomolekuláris adatok

NR8383 sejtek | 305200

Receptors expressed	Fc
Protein expression	Transzformáló növekedési faktor béta (Tgf Beta), Interleukin 1 (Il-1), Interleukin 6 (Il-6)

A kezelése

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabil glutamin, w: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytion 820700a cikkszám)
Supplements	A táptalajt 15% hővel inaktivált FBS-szel egészítsük ki
Dissociation Reagent	Accutase, csak a tapadó sejtek, a lebegő sejteket külön kell gyűjteni.
Subculturing	Gyűjtse össze a szuszpenziós sejteket egy 15 ml-es csőbe, és óvatosan mossa át a megtapadt sejteket kalciumot és magnéziumot nem tartalmazó PBS-szel (T25 lombik esetén 3-5 ml-t, T75 lombik esetén 5-10 ml-t használjon). Vigyen fel Accutase-t (1-2 ml-t T25 lombikokhoz, 2,5 ml-t T75 lombikokhoz), biztosítva a sejtréteg teljes lefedettségét. Hagyjuk a sejteket 10 percig szobahőmérsékleten inkubálni. Az inkubációt követően egyesítsük és centrifugáljuk a szuszpenziót és az adhezív sejteket. A centrifugálás után óvatosan reszuszpendáljuk a sejtpelletet, és a sejtszuszpenziót helyezzük át friss tápfolyadékot tartalmazó új lombikokba.
Split ratio	1:2–1:4
Fluid renewal	hetente 2-3 alkalommal
Freeze medium	Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150 °C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37 °C-os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a kriofülkét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtszuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet 300 x g-n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejtpelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejtvonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, párásított légkör.
Flask Coating	Nincs
Freezing Procedure	A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.
Shipping Conditions	A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Storage Conditions	Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés és molekuláris elemzés

Sterility	A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják. A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejtkultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.