

NRK-IBB-DiHcRed1 sejtek | 500671

Általános információk

Description

Az NRK-IBB-DiHcRed1 egy módosított sejtvonala, amely normál patkányvese (NRK) sejtekből származik, és a DiHcRed1 vörös fluoreszcens fehérje expressziójára lett kifejlesztve. Ez a módosítás lehetővé teszi a kutatók számára, hogy fluoreszcens mikroszkópia segítségével valós időben kövessék és vizualizálják a sejt folyamatokat. A stabil vörös fluoreszcencia ideális az élő sejtek képalkotásához, megkönnyítve a sejtek migrációjának, osztódásának és morfológiájának vizsgálatát.

A sejt vonal megőrzi az NRK sejtek tipikus jellemzőit, beleértve az epithelszerű morfológiát és a normális proliferációt, így megbízható modell az emlős sejtek viselkedésének tanulmányozására. A vörös fluoreszcencia lehetővé teszi a multiplexelést más markerekkel is, ami fokozza a sejtbiológiában, a rákkutatásban és a gyógyszerkészítésben való felhasználást.

Organism Patkány

Tissue Vese

Synonyms NRK IBB-DiHcRed1

Jellemzők

Breed/Subspecies OsborneMendel

Morphology Fibroblaszt-szerű, fusiform alakú sejtek

Growth properties Monoréteg, tapadó

Szabályozási adatok

Citation NRK-IBB-DiHcRed1 (Cytion katalógusszám: 500671)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10116

CellosaurusAccession CVCL_AV95

Depositor Az Ellenberg Labor (EMBL)

Biomolekuláris adatok

NRK-IBB-DiHcRed1 sejtek | 500671

Receptors expressed	Epidermális növekedési faktor (EGF), szaporodást serkentő aktivitás (MSA)
Protein expression	IBB-DiHcRed1: 589 / Pcmv, 656..916 / IBB, 932..1615 , 1670..2356 / HcRed1, 3587..4381 / KanR/NeoR
Products	CMV Promotor IBB (Ribbeck & Gorlich 2002), neomicin, foszfortranszferáz, epidermális növekedési faktor, szaporodást serkentő aktivitás

A kezelése

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glükóz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM nátrium-piruvát (Cytion cikkszám 820300a)
Supplements	A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel, 0,5 mg/ml G418-zal
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Dobja ki a régi tápfolyadékot, és mossa ki a sejteket PBS-szel. Adjunk hozzá frissen készített 0,025%-os tripszin/0,02%-os EDTA oldatot 37 Celsius-fokra melegítve, és várjuk meg, amíg a sejtek leválnak, ami általában körülbelül 5 percig tart. Semlegesítse a tripszint friss tápfolyadék hozzáadásával, majd helyezze át a sejtkeveréket egy csőbe és centrifugálja. A centrifugálás után távolítsa el a felülúszót, reszuszpendálja a sejt pelletet friss táptalajban, és a szuszpenziót helyezze át új lombikba. Adjunk a táptalajhoz G418-at, hogy 0,5 mg/ml végkoncentrációt érjünk el
Split ratio	1:3 és 1:4 közötti arányt javasolunk
Seeding density	2-4 x 10 ⁴ sejt/cm ²
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 krioindukált stressz csökkentése érdekében.

NRK-IBB-DiHcRed1 sejtek | 500671

**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 sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 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 sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C , 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

Nincs

**Freezing
Procedure**

A kriokonzervált sejt vonalakat 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 sejt vonalakat 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.

NRK-IBB-DiHcRed1 sejtek | 500671

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 / Genetikai profil / HLA

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 sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.