

NRK-IBB-DiHcRed1 ląstelės | 500671

Bendra informacija

Description

NRK-IBB-DiHcRed1 yra modifikuota ląstelių linija, gauta iš normalių žiurkių inkstų (NRK) ląstelių, sukurta taip, kad ekspresuotų raudoną fluorescencinį baltymą DiHcRed1. Ši modifikacija leidžia mokslininkams stebėti ir vizualizuoti ląstelinius procesus realiuoju laiku naudojant fluorescencinę mikroskopiją. Stabili raudona fluorescencija idealiai tinka gyvų ląstelių vaizdavimui, palengvina ląstelių migracijos, dalijimosi ir morfologijos tyrimus.

Ląstelių linija išlaiko tipiškas NRK ląstelių savybes, įskaitant į epitelį panašią morfologiją ir normalų dauginimąsi, todėl ji yra patikimas modelis žinduolių ląstelių elgsenai tirti. Raudona fluorescencija taip pat leidžia ją sujungti su kitais ženklais, todėl ją galima naudoti ląstelių biologijoje, vėžio tyrimuose ir vaistų atrankoje.

Organism Žiurkės

Tissue Inkstai

Synonyms NRK IBB-DiHcRed1

Charakteristikos

Breed/Subspecies OsborneMendel

Morphology Į fibroblastus panašios ląstelės, kurių forma yra susiliejanči

Growth properties Viensluoksnis, prigludęs

Reguliavimo duomenys

Citation NRK-IBB-DiHcRed1 (Cytion katalogo numeris 500671)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10116

CellosaurusAccession CVCL_AV95

Depositor Ellenbergo laboratorija (EMBL)

Biomolekuliniai duomenys

NRK-IBB-DiHcRed1 ląstelės | 500671

| | |
|----------------------------|--|
| Receptors expressed | Epidermio augimo veiksnys (EGF), dauginimąsi skatinantis aktyvumas (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), neomicinas, fosfotransferazė, epidermio augimo faktorius, dauginimąsi skatinantis aktyvumas |

Tvarkymas

| | |
|-----------------------|---|
| Culture Medium | DMEM, š: 4,5 g/l gliukozės, š: 4 mM L-glutamino, š: 3,7 g/l NaHCO ₃ , š: 1,0 mM natrio piruvato (Cytion gaminio numeris 820300a) |
|-----------------------|---|

| | |
|--------------------|--|
| Supplements | Papildykite terpę 10 % FBS, 0,5 mg/ml G418 |
|--------------------|--|

| | |
|-----------------------------|----------|
| Dissociation Reagent | Accutase |
|-----------------------------|----------|

| | |
|---------------------|--|
| Subculturing | Išmeskite seną terpę ir nuplaukite ląsteles PBS. Įpilkite šviežiai paruošto 0,025 % tripsino/0,02 % EDTA tirpalo, pašildyto iki 37 °C temperatūros, ir palaukite, kol ląstelės atsiskirs (paprastai tai trunka apie 5 minutes). Neutralizuokite tripsiną, įpilkite šviežios terpės, tada perkelti ląstelių mišinį į mėgintuvėlį ir centrifuguokite. Po centrifugavimo pašalinkite supernatantą, ląstelių granules vėl sutirpinkite šviežioje terpėje ir perpilkite suspensiją į naujas kolbas. Įmaišykite G418 į mitybinę terpę, kad galutinė koncentracija būtų 0,5 mg/ml |
|---------------------|--|

| | |
|--------------------|--|
| Split ratio | Rekomenduojamas santykis nuo 1:3 iki 1:4 |
|--------------------|--|

| | |
|------------------------|--|
| Seeding density | 2–4 x 10 ⁴ ląstelės/cm ² |
|------------------------|--|

| | |
|----------------------|------------------------|
| Fluid renewal | 2-3 kartus per savaitę |
|----------------------|------------------------|

| | |
|----------------------|---|
| Freeze medium | Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas. |
|----------------------|---|

NRK-IBB-DiHcRed1 ląstelės | 500671

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite $300 \times g$ greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Nėra

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

NRK-IBB-DiHcRed1 ląstelės | 500671

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystą azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.