

NRK-IBB-DiHcRed1 šūnas | 500671

Vispārīga informācija

Description

NRK-IBB-DiHcRed1 ir modificēta šūnu līnija, kas iegūta no normālām žurku nieru (NRK) šūnām, kas izstrādāta, lai ekspresētu sarkano fluorescējošo proteīnu DiHcRed1. Šī modifikācija ļauj pētniekiem izsekot un vizualizēt šūnu procesus reāllaikā, izmantojot fluorescences mikroskopiju. Stabila sarkanā fluorescence ir ideāli piemērota dzīvu šūnu attēlveidošanai, atvieglojot šūnu migrācijas, dalīšanās un morfoloģijas pētījumus.

Šūnu līnija saglabā NRK šūnām raksturīgās īpašības, tostarp epitēlija veida morfoloģiju un normālu proliferāciju, padarot to par uzticamu modeli zīdītāju šūnu uzvedības izpētei. Sarkanā fluorescence arī ļauj to multipleksēt ar citiem marķieriem, tādējādi uzlabojot tās izmantošanu šūnu bioloģijā, vēža pētījumos un zāļu skrīningā.

Organism Žurkas

Tissue Nieres

Synonyms NRK IBB-DiHcRed1

Raksturojums

Breed/Subspecies OsborneMendel

Morphology Fibroblastiem līdzīgas šūnas ar fusiformas formu

Growth properties Vienslāņa, adhēzija

Normatīvie dati

Citation NRK-IBB-DiHcRed1 (Cytion kataloga numurs 500671)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10116

CellosaurusAccession CVCL_AV95

Depositor Ellenberga laboratorija (EMBL)

Biomolekulārie dati

NRK-IBB-DiHcRed1 šūnas | 500671

Receptors expressed Epidermas augšanas faktors (EGF), multiplikāciju stimulējoša aktivitāte (MSA)

Protein expression IBB-DiHcRed1: 589 / Pcmv, 656..916 / IBB, 932..1615 , 1670..2356 / HcRed1, 3587..4381 / KanR/NeoR

Products CMV Promotors IBB (Ribbeck & Gorlich 2002), neomicīns, fosfotransferāze, epidermas augšanas faktors, multiplikāciju stimulējoša aktivitāte

Darbs ar

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/l glikozes, w: 4 mM L-glutamīna, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM nātrija piruvāta (Cytion izstrādājuma numurs 820300a)

Supplements Papildiniet barotni ar 10% FBS, 0,5 mg/ml G418

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Izmetiet veco barotni un izskalojiet šūnas ar PBS. Pievienojiet svaigi sagatavotu 0,025 % tripsīna/0,02 % EDTA šķīdumu, kas uzsildīts līdz 37 °C temperatūrai, un pagaidiet, līdz šūnas atdalās, kas parasti ilgst apmēram 5 minūtes. Neitralizēt tripsīnu, pievienojot svaigu barotni, pēc tam šūnu maisījumu pārvietot mēģenē un centrifugēt. Pēc centrifugēšanas noņemiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnu granulas svaigā barotnē un pārnesiet suspensiju uz jaunām kolbām. Iekļaut G418 barotnē, lai sasniegtu galīgo koncentrāciju 0,5 mg/ml

Split ratio Ieteicamais proporcijas ir no 1:3 līdz 1:4

Seeding density 2 līdz 4 x 10⁴ šūnas/cm²

Fluid renewal 2 līdz 3 reizes nedēļā

Freeze medium Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanu un samazinātu krioinducēto stresu.

NRK-IBB-DiHcRed1 šūnas | 500671**Thawing and
Culturing Cells**

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Neviens

**Freezing
Procedure**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

NRK-IBB-DiHcRed1 šūnas | 500671

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.