

NRK-IBB-DiHcRed1-celler | 500671

Generell informasjon

Description

NRK-IBB-DiHcRed1 er en modifisert cellelinje avledet fra normale rottenyreceller (NRK), som er konstruert for å uttrykke det røde fluorescerende proteinet DiHcRed1. Denne modifikasjonen gjør det mulig for forskere å spore og visualisere cellulære prosesser i sanntid ved hjelp av fluorescensmikroskopi. Den stabile røde fluorescensen er ideell for avbildning av levende celler, noe som gjør det enklere å studere cellemigrasjon, celledeling og morfologi.

Cellelinjen beholder de typiske egenskapene til NRK-celler, inkludert epitel-lignende morfologi og normal proliferasjon, noe som gjør den til en pålitelig modell for studier av pattedyrcellers atferd. Den røde fluorescensen gjør det også mulig å multipleksere med andre markører, noe som øker bruken innen cellebiologi, kreftforskning og screening av legemidler.

Organism Rotte

Tissue Nyre

Synonyms NRK IBB-DiHcRed1

Kjennetegn

Breed/Subspecies OsborneMendel

Morphology Fibroblastlignende celler med fusiform form

Growth properties Monolag, vedheftende

Regulatoriske data

Citation NRK-IBB-DiHcRed1 (Cytion katalognummer 500671)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10116

CellosaurusAccession CVCL_AV95

Depositor Ellenberg-laboratoriet (EMBL)

Biomolekylære data

NRK-IBB-DiHcRed1-celler | 500671

Receptors expressed	Epidermal vekstfaktor (EGF), multiplikasjonsstimulerende aktivitet (MSA)
Protein expression	IBB-DiHcRed1: Plassering/gen: 1..589 / Pcmv, 656..916 / IBB, 932..1615 , 1670..2356 / HcRed1, 3587..4381 / KanR/NeoR
Products	CMV Promotor IBB (Ribbeck & Gorlich 2002), neomycin, fosfotransferase, epidermal vekstfaktor, multiplikasjonsstimulerende aktivitet

Håndtering

Culture Medium	DMEM, m: 4,5 g/L glukose, m: 4 mM L-glutamin, m: 3,7 g/L NaHCO ₃ , m: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikkelnummer 820300a)
Supplements	Suppler mediet med 10 % FBS, 0,5 mg/mL G418
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Kast det gamle mediet, og vask cellene med PBS. Tilsett en nyttilberedt 0,025 % trypsin/0,02 % EDTA-løsning oppvarmet til 37 grader Celsius, og vent til cellene løsner, noe som vanligvis tar ca. 5 minutter. Nøytraliser trypsinet ved å tilsette nytt medium, og overfør deretter celleblandingen til et rør og sentrifuger. Etter sentrifugering fjerner du supernatanten, resuspenderer cellepelletten i nytt dyrkingsmedium og overfører suspensjonen til nye kolber. Tilsett G418 i dyrkingsmediet for å oppnå en sluttkonsentrasjon på 0,5 mg/ml
Split ratio	Et forhold på 1:3 til 1:4 anbefales
Seeding density	2 til 4 x 10 ⁴ celler/cm ²
Fluid renewal	2 til 3 ganger per uke
Freeze medium	Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter optiming, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoinduisert stress.

NRK-IBB-DiHcRed1-celler | 500671

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelleten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

NRK-IBB-DiHcRed1-celler | 500671

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.