

Buňky NRK-IBB-DiHcRed1 | 500671**Obecné informace****Description**

NRK-IBB-DiHcRed1 je modifikovaná buněčná linie odvozená z buněk normální ledviny potkana (NRK), která je upravena tak, aby exprimovala červený fluorescenční protein DiHcRed1. Tato modifikace umožňuje výzkumníkům sledovat a vizualizovat buněčné procesy v reálném čase pomocí fluorescenční mikroskopie. Stabilní červená fluorescence je ideální pro zobrazování živých buněk, což usnadňuje studie buněčné migrace, dělení a morfologie.

Buněčná linie si zachovává typické vlastnosti buněk NRK, včetně epiteliální morfologie a normální proliferace, což z ní činí spolehlivý model pro studium chování savčích buněk. Červená fluorescence také umožňuje multiplexování s dalšími markery, což zvyšuje její využití v buněčné biologii, výzkumu rakoviny a screeningu léčiv.

Organism Křasy**Tissue** Ledviny**Synonyms** NRK IBB-DiHcRed1**Charakteristika****Breed/Subspecies** OsborneMendel**Morphology** Fibroblastům podobné buňky s fusiformním tvarem**Growth properties** Monovrstva, adherentní**Regulační údaje****Citation** NRK-IBB-DiHcRed1 (katalogové číslo Cytion 500671)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10116**CellosaurusAccession** CVCL_AV95**Depositor** Ellenbergova laboratoř (EMBL)**Biomolekulární data**

Buňky NRK-IBB-DiHcRed1 | 500671

Receptors expressed Epidermální růstový faktor (EGF), multiplikační stimulační aktivita (MSA)

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

Products CMV Promotor IBB (Ribbeck & Gorlich 2002), neomycin, fosfotransferáza, epidermální růstový faktor, aktivita stimulující množení

Zpracování

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutaminu, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)

Supplements Doplněte médium 10% FBS, 0,5 mg/ml G418

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Staré médium zlikvidujte a buňky promyjte PBS. Přidejte čerstvě připravený 0,025% roztok trypsinu/0,02% EDTA zahřátý na 37 °C a počkejte, dokud se buňky neoddělí, což obvykle trvá asi 5 minut. Neutralizujte trypsin přidáním čerstvého média, poté přeneste směs buněk do zkumavky a odstředte. Po odstředění odeberte supernatant, resuspendujte buněčnou peletu v čerstvém kultivačním médiu a suspenzi přeneste do nových baněk. Přidejte G418 do kultivačního média, abyste dosáhli konečné koncentrace 0,5 mg/ml

Split ratio Doporučuje se poměr 1:3 až 1:4

Seeding density 2 až 4 x 10⁴ buněk/cm²

Fluid renewal 2 až 3krát týdně

Freeze medium Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Buňky NRK-IBB-DiHcRed1 | 500671

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmražená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředujte při $300 \times g$ po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Pro optimální uchycení a životaschopnost po rozmrazení doporučujeme používat **baňky nebo destičky potažené kolagenem**.

Freezing Procedure

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Buňky NRK-IBB-DiHcRed1 | 500671

Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.