

**Cellule NRK-IBB-DiHcRed1 | 500671****Informazioni generali****Description**

NRK-IBB-DiHcRed1 è una linea cellulare modificata derivata da cellule di rene normale di ratto (NRK), ingegnerizzata per esprimere la proteina rossa fluorescente DiHcRed1. Questa modifica consente ai ricercatori di seguire e visualizzare i processi cellulari in tempo reale utilizzando la microscopia a fluorescenza. La fluorescenza rossa stabile è ideale per l'imaging di cellule vive, facilitando gli studi sulla migrazione, la divisione e la morfologia delle cellule.

La linea cellulare mantiene le caratteristiche tipiche delle cellule NRK, tra cui la morfologia simile a quella epiteliale e la normale proliferazione, che la rendono un modello affidabile per lo studio del comportamento delle cellule di mammifero. La fluorescenza rossa consente inoltre il multiplexing con altri marcatori, migliorandone l'uso nella biologia cellulare, nella ricerca sul cancro e nello screening dei farmaci.

**Organism** Ratto**Tissue** Rene**Synonyms** NRK IBB-DiHcRed1**Caratteristiche****Breed/Subspecies** OsborneMendel**Morphology** Cellule simili a fibroblasti con forma fusiforme**Growth properties** Monostrato, aderente**Dati normativi****Citation** NRK-IBB-DiHcRed1 (numero di catalogo Cytion 500671)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 10116**CellosaurusAccession** CVCL\_AV95**Depositor** Il laboratorio Ellenberg (EMBL)**Dati biomolecolari**

**Cellule NRK-IBB-DiHcRed1 | 500671**

<b>Receptors expressed</b>	Fattore di crescita epidermico (EGF), attività stimolante la moltiplicazione (MSA)
<b>Protein expression</b>	IBB-DiHcRed1: Posizione/gene: 1..589 / Pcmv, 656..916 / IBB, 932..1615 , 1670..2356 / HcRed1, 3587..4381 / KanR/NeoR
<b>Products</b>	CMV Promotor IBB (Ribbeck & Gorlich 2002), Neomicina, Fosfotransferasi, Fattore di crescita epidermico, Attività di stimolo alla moltiplicazione

**Manipolazione**

<b>Culture Medium</b>	DMEM, w: 4,5 g/L di glucosio, w: 4 mM di L-Glutamina, w: 3,7 g/L di NaHCO <sub>3</sub> , w: 1,0 mM di piruvato di sodio (articolo Cytion numero 820300a)
<b>Supplements</b>	Integrare il terreno di coltura con 10% FBS, 0,5 mg/mL G418
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Subculturing</b>	Eliminare il vecchio terreno e lavare le cellule con PBS. Aggiungere una soluzione di tripsina 0,025%/0,02% EDTA appena preparata e riscaldata a 37 gradi Celsius e attendere che le cellule si stacchino, il che di solito richiede circa 5 minuti. Neutralizzare la tripsina aggiungendo terreno fresco, quindi trasferire la miscela di cellule in una provetta e centrifugare. Dopo la centrifugazione, rimuovere il surnatante, risospendere il pellet di cellule in terreno di coltura fresco e trasferire la sospensione in nuove fiasche. Incorporare G418 nel terreno di coltura per ottenere una concentrazione finale di 0,5 mg/ml
<b>Split ratio</b>	Si raccomanda un rapporto da 1:3 a 1:4
<b>Seeding density</b>	Da 2 a 4 x 10 <sup>4</sup> cellule/cm <sup>2</sup>
<b>Fluid renewal</b>	da 2 a 3 volte alla settimana
<b>Freeze medium</b>	Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelo, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

## Cellule NRK-IBB-DiHcRed1 | 500671

### Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

### Incubation Atmosphere

37°C, 5%<sub>CO2</sub>, atmosfera umidificata.

### Flask Coating

Nessuno

### Freezing Procedure

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

### Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

## Cellule NRK-IBB-DiHcRed1 | 500671

### Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

## Controllo di qualità / Profilo genetico / HLA

### Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.