

Komórki NRK-IBB-DiHcRed1 | 500671**Informacje ogólne****Description**

NRK-IBB-DiHcRed1 to zmodyfikowana linia komórkowa pochodząca z normalnych szczurzych komórek nerkowych (NRK), zaprojektowana w celu ekspresji czerwonego białka fluorescencyjnego DiHcRed1. Modyfikacja ta pozwala badaczom śledzić i wizualizować procesy komórkowe w czasie rzeczywistym za pomocą mikroskopii fluorescencyjnej. Stabilna czerwona fluorescencja jest idealna do obrazowania żywych komórek, ułatwiając badania nad migracją, podziałem i morfologią komórek.

Linia komórkowa zachowuje typowe cechy komórek NRK, w tym morfologię podobną do nabłonka i normalną proliferację, co czyni ją niezawodnym modelem do badania zachowania komórek ssaków. Czerwona fluorescencja pozwala również na multipleksowanie z innymi markerami, zwiększając jej zastosowanie w biologii komórki, badaniach nad rakiem i badaniach przesiewowych leków.

Organism Szczur**Tissue** Nerka**Synonyms** NRK IBB-DiHcRed1**Charakterystyka****Breed/Subspecies** OsborneMendel**Morphology** Komórki podobne do fibroblastów o wrzecionowatym kształcie**Growth properties** Monowarstwa, przylegająca**Dane regulacyjne****Citation** NRK-IBB-DiHcRed1 (numer katalogowy Cytion 500671)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10116**CellosaurusAccession** CVCL_AV95**Depositor** Laboratorium Ellenberg (EMBL)**Dane biomolekularne**

Komórki NRK-IBB-DiHcRed1 | 500671

Receptors expressed	Epidermalny czynnik wzrostu (EGF), aktywność stymulująca namnażanie (MSA)
Protein expression	IBB-DiHcRed1: Lokalizacja/gen: 1..589 / Pcmv, 656..916 / IBB, 932..1615 , 1670..2356 / HcRed1, 3587..4381 / KanR/NeoR
Products	CMV Promotor IBB (Ribbeck & Gorlich 2002), neomycyna, fosfotransferaza, naskórkowy czynnik wzrostu, aktywność stymulująca namnażanie

Obsługa

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukozy, w: 4 mM L-glutaminy, w: 3,7 g/l NaHCO ₃ , w: 1,0 mM pirogronianu sodu (numer artykułu Cytion 820300a)
Supplements	Uzupełnić podłoże 10% FBS, 0,5 mg/ml G418
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Wyrzucić starą pożywkę i przepłukać komórki PBS. Dodaj świeżo przygotowany 0,025% roztwór trypsyny/0,02% EDTA podgrzany do 37 stopni Celsjusza i poczekaj, aż komórki się odłączą, co zwykle zajmuje około 5 minut. Zneutralizować trypsynę przez dodanie świeżej pożywki, a następnie przenieść mieszaninę komórek do probówki i odwirować. Po odwirowaniu usunąć supernatant, ponownie zawiesić osad komórkowy w świeżej pożywce i przenieść zawiesinę do nowych kolb. Dodać G418 do podłoża hodowlanego, aby osiągnąć końcowe stężenie 0,5 mg/ml
Split ratio	Zalecany jest stosunek 1:3 do 1:4
Seeding density	2 do 4 x 10 ⁴ komórek/cm ²
Fluid renewal	2 do 3 razy w tygodniu
Freeze medium	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

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

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

**Freezing
Procedure**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki NRK-IBB-DiHcRed1 | 500671

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196°C . Przechowywanie w temperaturze -80°C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.