

**Células NRK-IBB-DiHcRed1 | 500671****Informações gerais****Description**

A NRK-IBB-DiHcRed1 é uma linha celular modificada derivada de células normais de rim de rato (NRK), concebida para expressar a proteína fluorescente vermelha DiHcRed1. Esta modificação permite aos investigadores seguir e visualizar processos celulares em tempo real utilizando microscopia de fluorescência. A fluorescência vermelha estável é ideal para a imagiologia de células vivas, facilitando estudos sobre migração, divisão e morfologia celulares.

A linha celular mantém as características típicas das células NRK, incluindo a morfologia epitelial e a proliferação normal, o que a torna um modelo fiável para o estudo do comportamento das células de mamíferos. A fluorescência vermelha também permite a multiplexagem com outros marcadores, melhorando a sua utilização na biologia celular, na investigação do cancro e no rastreio de medicamentos.

**Organism** Rato**Tissue** Rim**Synonyms** NRK IBB-DiHcRed1**Caraterísticas****Breed/Subspecies** OsborneMendel**Morphology** Células semelhantes a fibroblastos com forma fusiforme**Growth properties** Monocamada, aderente**Dados regulamentares****Citation** NRK-IBB-DiHcRed1 (número de catálogo 500671 da Cytion)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 10116**CellosaurusAccession** CVCL\_AV95**Depositor** O Laboratório Ellenberg (EMBL)**Dados biomoleculares**

**Células NRK-IBB-DiHcRed1 | 500671**

|                            |   |
|----------------------------|---|
| <b>Receptors expressed</b> | Fator de crescimento epidérmico (EGF), atividade estimuladora da multiplicação (MSA)  |
| <b>Protein expression</b>  | IBB-DiHcRed1: Localização/gene: 1..589 / Pcmv, 656..916 / IBB, 932..1615 , 1670..2356 / HcRed1, 3587..4381 / KanR/NeoR                              |
| <b>Products</b>            | Promotor do CMV IBB (Ribbeck & Gorlich 2002), Neomicina, Fosfotransferase, Fator de crescimento epidérmico, atividade estimuladora da multiplicação |

**Manuseamento**

|                       |  |
|-----------------------|--|
| <b>Culture Medium</b> | DMEM, com: 4,5 g/L de glicose, com: 4 mM de L-Glutamina, com: 3,7 g/L de NaHCO <sub>3</sub> , com: 1,0 mM de piruvato de sódio (número de artigo Cytion 820300a) |
|-----------------------|--|

|                    |  |
|--------------------|--|
| <b>Supplements</b> | Suplementar o meio com 10% de FBS, 0,5 mg/mL de G418 |
|--------------------|--|

|                             |          |
|-----------------------------|----------|
| <b>Dissociation Reagent</b> | Accutase |
|-----------------------------|----------|

|                     |  |
|---------------------|--|
| <b>Subculturing</b> | Deitar fora o meio antigo e lavar as células com PBS. Adicionar uma solução recém-preparada de tripsina a 0,025%/0,02% de EDTA aquecida a 37 graus Celsius e aguardar até que as células se desprendam, o que normalmente demora cerca de 5 minutos. Neutralizar a tripsina adicionando meio fresco e, em seguida, transferir a mistura de células para um tubo e centrifugar. Após a centrifugação, remover o sobrenadante, ressuspender o pellet de células em meio de cultura fresco e transferir a suspensão para novos frascos. Incorporar G418 no meio de cultura para obter uma concentração final de 0,5 mg/ml |
|---------------------|--|

|                    |   |
|--------------------|---|
| <b>Split ratio</b> | Recomenda-se uma proporção de 1:3 a 1:4 |
|--------------------|---|

|                        |   |
|------------------------|---|
| <b>Seeding density</b> | 2 a 4 x 10 <sup>4</sup> células/cm <sup>2</sup> |
|------------------------|---|

|                      |                        |
|----------------------|------------------------|
| <b>Fluid renewal</b> | 2 a 3 vezes por semana |
|----------------------|------------------------|

|                      |   |
|----------------------|---|
| <b>Freeze medium</b> | Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio. |
|----------------------|---|

## Células NRK-IBB-DiHcRed1 | 500671

### Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a  $-150^{\circ}\text{C}$  para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a  $37^{\circ}\text{C}$  com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfetando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfetado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a  $300 \times g$  durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , atmosfera humidificada.

### Flask Coating

Nenhum

### Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente  $-78^{\circ}\text{C}$  durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

## Células NRK-IBB-DiHcRed1 | 500671

### Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

### Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

## Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

### Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspeções visuais diárias.