

Celule NRK-IBB-DiHcRed1 | 500671**Informații generale****Description**

NRK-IBB-DiHcRed1 este o linie celulară modificată derivată din celule normale de rinichi de șobolan (NRK), proiectată pentru a exprima proteina fluorescentă roșie DiHcRed1. Această modificare permite cercetătorilor să urmărească și să vizualizeze procesele celulare în timp real utilizând microscopia cu fluorescență. Fluorescența roșie stabilă este ideală pentru imagistica celulelor vii, facilitând studiile privind migrația, diviziunea și morfologia celulelor.

Linia celulară păstrează caracteristicile tipice ale celulelor NRK, inclusiv morfologia de tip epitelial și proliferarea normală, ceea ce o face un model fiabil pentru studiul comportamentului celulelor de mamifere. Fluorescența roșie permite, de asemenea, multiplexarea cu alți markeri, îmbunătățind utilizarea sa în biologia celulară, cercetarea cancerului și screeningul medicamentelor.

Organism Șobolan**Tissue** Rinichi**Synonyms** NRK IBB-DiHcRed1**Caracteristici****Breed/Subspecies** OsborneMendel**Morphology** Celule asemănătoare fibroblastelor cu formă fusiformă**Growth properties** Monostrat, aderent**Date de reglementare****Citation** NRK-IBB-DiHcRed1 (număr de catalog Cytion 500671)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10116**CellosaurusAccession** CVCL_AV95**Depositor** Laboratorul Ellenberg (EMBL)**Date biomoleculare**

Celule NRK-IBB-DiHcRed1 | 500671

Receptors expressed	Factor de creștere epidermică (EGF), activitate de stimulare a multiplicării (MSA)
Protein expression	IBB-DiHcRed1: Localizare/gene: 1..589 / Pcmv, 656..916 / IBB, 932..1615, 1670..2356 / HcRed1, 3587..4381 / KanR/NeoR
Products	CMV Promotor IBB (Ribbeck & Gorlich 2002), neomicină, fosfotransferază, factor de creștere epidermică, activitate de stimulare a multiplicării

Manipulare

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glucoză, w: 4 mM L-glutamină, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM piruvat de sodiu (număr articol Cytion 820300a)
Supplements	Suplimentați mediul cu 10% FBS, 0,5 mg/mL G418
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Aruncați mediul vechi și spălați celulele cu PBS. Se adaugă o soluție proaspăt preparată de tripsină 0,025%/0,02% EDTA încălzită la 37 de grade Celsius și se așteaptă până când celulele se desprind, ceea ce durează de obicei aproximativ 5 minute. Neutralizați tripsina prin adăugarea de mediu proaspăt, apoi transferați amestecul de celule într-un tub și centrifugați. După centrifugare, îndepărtați supernatantul, resuspendați peletul celular în mediu de cultură proaspăt și transferați suspensia în flacoane noi. Încorporați G418 în mediul de cultură pentru a obține o concentrație finală de 0,5 mg/ml
Split ratio	Se recomandă un raport de 1:3 până la 1:4
Seeding density	2 până la 4×10^4 cel ^{ule} /cm ²
Fluid renewal	de 2 până la 3 ori pe săptămână
Freeze medium	Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezghețare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanți optimizați și stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea și a reduce stresul indus de criogenie.

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

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual.
7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă.
8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , atmosferă umidificată.

Flask Coating

Niciuna

**Freezing
Procedure**

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

**Shipping
Conditions**

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Celule NRK-IBB-DiHcRed1 | 500671

Storage Conditions

Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

Controlul calității / Profil genetic / HLA

Sterility

Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență.

Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.