

**Bunky NRK-49F | 500427****Všeobecné informácie**

**Description** Rovnako ako bunky NRK-52E, aj táto bunková línia pochádza z rovnakej zmiešanej kultúry normálnych potkaních obličkových buniek, ale má odlišné vlastnosti. Bunky vykazujú kontaktnú inhibíciu a sú veľmi citlivé na vírusovú alebo chemickú transformáciu vrátane proteínov, ako je SGF. Bunky NRK-49F sa používajú na biologické testy TGF-Beta.

**Organism** Krysy

**Tissue** Obličky

**Synonyms** NRK 49F, NRK49F, klon NRK 49F, normálna krysia oblička 49F

**Charakteristika**

**Breed/Subspecies** OsborneMendel

**Morphology** Fibroblastom podobné

**Cell type** Fibroblasty

**Growth properties** Adherent

**Regulačné údaje**

**Citation** NRK-49F (katalógové číslo Cytion 500427)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 10116

**CellosaurusAccession** CVCL\_2144

**Biomolekulárne údaje**

**Receptors expressed** Epidermálny rastový faktor (EGF), aktivita stimulujúca množenie (MSA)

**Spracovanie**

**Bunky NRK-49F | 500427**

**Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamín, w: 2,2 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: EBSS (Cytion číslo článku 820100a)

**Supplements** Doplníte médium o 10% FBS a 1% NEAA

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredujte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.

**Split ratio** Odporúča sa pomer 1:3 až 1:4

**Seeding density** 2 až 4 x 10<sup>4</sup> buniek/cm<sup>2</sup>

**Fluid renewal** 2 až 3-krát týždenne

**Freeze medium** Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

**Bunky NRK-49F | 500427****Thawing and  
Culturing Cells**

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

**Incubation  
Atmosphere**

37 °C, 5 %  $\text{CO}_2$ , zvlhčená atmosféra.

**Flask Coating**

Žiadne

**Freezing  
Procedure**

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

**Shipping  
Conditions**

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

## Bunky NRK-49F | 500427

### Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

## Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

### Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.

### STR profile

**Rat\_D1Wox31:** 96,1  
**Rat\_D2Wox37:** 150 156  
**Rat\_D19Wox11:** 220  
**Rat\_D10Wox8:** 266,27  
**Rat\_D4Wox7:** 153, 157, 161  
**Rat\_D2Wox27:** 211 215  
**Rat\_D5Rat33:** 122 138  
**Rat\_D10Wox11:** 156  
**Rat\_D1Wox23:** 210 214  
**Rat\_D12Wox1:** 402 406  
**Rat\_D6Wox2:** 104 124  
**Rat\_D8Wox7:** 185  
**Rat\_D6Cebr1:** 223 233  
**SRY:** x, Y