

Bunky NRK-IBB-DiHcRed1 | 500671**Všeobecné informácie****Description**

NRK-IBB-DiHcRed1 je modifikovaná bunková línia odvodená od normálnych potkaních obličkových buniek (NRK), vytvorená na expresiu červeného fluorescenčného proteínu DiHcRed1. Táto modifikácia umožňuje výskumníkom sledovať a vizualizovať bunkové procesy v reálnom čase pomocou fluorescenčnej mikroskopie. Stabilná červená fluorescencia je ideálna na zobrazovanie živých buniek, čo uľahčuje štúdie migrácie, delenia a morfológie buniek.

Bunková línia si zachováva typické vlastnosti buniek NRK vrátane epitelovej morfológie a normálnej proliferácie, čo z nej robí spoľahlivý model na štúdium správania buniek cicavcov. Červená fluorescencia tiež umožňuje multiplexovanie s inými markermi, čo zvyšuje jej využitie v bunkovej biológii, výskume rakoviny a skríningu liečiv.

Organism Krysy**Tissue** Obličky**Synonyms** NRK IBB-DiHcRed1**Charakteristika****Breed/Subspecies** OsborneMendel**Morphology** Fibroblastom podobné bunky s fusiformným tvarom**Growth properties** Monovrstva, priliehajúca**Regulačné údaje****Citation** NRK-IBB-DiHcRed1 (katalógové číslo Cytion 500671)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10116**CellosaurusAccession** CVCL_AV95**Depositor** Ellenbergova laboratória (EMBL)**Biomolekulárne údaje**

Bunky NRK-IBB-DiHcRed1 | 500671

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

Protein expression IBB-DiHcRed1: 932..1615 , 1670..2356 / HcRed1, 3587..4381 / KanR/NeoR

Products CMV Promotor IBB (Ribbeck & Gorlich 2002), neomycín, fosfotransferáza, epidermálny rastový faktor, aktivita stimulujúca množenie

Spracovanie

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutamínu, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)

Supplements Doplníte médium o 10 % FBS, 0,5 mg/ml G418

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Staré médium zlikvidujte a bunky premyte PBS. Pridajte čerstvo pripravený 0,025 % roztok trypsínu/0,02 % EDTA zahriaty na 37 °C a počkajte, kým sa bunky neoddelia, čo zvyčajne trvá asi 5 minút. Neutralizujte trypsin pridaním čerstvého média, potom zmes buniek preneste do skúmavky a odstredte. Po odstredení odstráňte supernatant, resuspendujte bunkovú peletu v čerstvom kultivačnom médiu a suspenziou prelejte do nových fliaš. Do kultivačného média pridajte G418, aby ste dosiahli konečnú koncentráciu 0,5 mg/ml

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

Seeding density 2 až 4 x 10⁴ buniek/cm²

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-IBB-DiHcRed1 | 500671**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 % 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-IBB-DiHcRed1 | 500671

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.