

Celice NRK-IBB-DiHcRed1 | 500671**Splošne informacije****Description**

NRK-IBB-DiHcRed1 je modificirana celična linija, pridobljena iz normalnih ledvičnih celic podgane (NRK), ki je zasnovana tako, da izraža rdeči fluorescenčni protein DiHcRed1. Ta modifikacija raziskovalcem omogoča spremljanje in vizualizacijo celičnih procesov v realnem času z uporabo fluorescenčne mikroskopije. Stabilna rdeča fluorescenca je idealna za slikanje živih celic, kar olajša študije migracije, delitve in morfologije celic.

Celična linija ohranja tipične lastnosti celic NRK, vključno z epitelijam podobno morfologijo in normalno proliferacijo, zato je zanesljiv model za preučevanje obnašanja celic sesalcev. Rdeča fluorescenca omogoča tudi multipleksiranje z drugimi označevalci, kar povečuje njeno uporabo v celični biologiji, raziskavah raka in presejanju zdravil.

Organism Podgana**Tissue** Ledvice**Synonyms** NRK IBB-DiHcRed1**Značilnosti****Breed/Subspecies** OsborneMendel**Morphology** Fibroblastom podobne celice s fusiformno obliko**Growth properties** Enoslojni, adherentni**Regulativni podatki****Citation** NRK-IBB-DiHcRed1 (kataloška številka Cytion 500671)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10116**CellosaurusAccession** CVCL_AV95**Depositor** Laboratorij Ellenberg (EMBL)**Biomolekularni podatki**

Celice NRK-IBB-DiHcRed1 | 500671

Receptors expressed Epidermalni rastni dejavnik (EGF), aktivnost, ki spodbuja razmnoževanje (MSA)

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

Products CMV Promotor IBB (Ribbeck & Gorlich 2002), neomicin, fosfotransferaza, epidermalni rastni faktor, aktivnost spodbujanja razmnoževanja

Ravnanje s spletno stranjo

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L glukoze, w: 4 mM L-glutamina, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM natrijevega piruvata (številka izdelka Cytion 820300a)

Supplements Gojišču dodajte 10 % FBS, 0,5 mg/ml G418

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Zavržite staro gojišče in celice sperite s PBS. Dodajte sveže pripravljeno 0,025 % raztopino tripsina/0,02 % EDTA, segrejte na 37 stopinj Celzija, in počakajte, da se celice ločijo, kar običajno traja približno 5 minut. Tripsin nevtralizirajte z dodajanjem svežega gojišča, nato celično mešanico prenesite v epruveto in centrifugirajte. Po centrifugiranju odstranite supernatant, ponovno suspendirajte celično pelet v svežem gojišču in suspenzijo prenesite v nove bučke. G418 dodajte v gojišče, da dosežete končno koncentracijo 0,5 mg/ml

Split ratio Priporoča se razmerje od 1:3 do 1:4

Seeding density 2 do 4 x 10⁴ celic/cm²

Fluid renewal 2 do 3-krat na teden

Freeze medium Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročene s kriom.

Celice NRK-IBB-DiHcRed1 | 500671

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu krioviala takoj shranite pri temperaturi pod $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa krioviala razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $300 \times g$ 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Flask Coating

Nič

Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Celice NRK-IBB-DiHcRed1 | 500671

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vial postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.