

Клітини NRK-IBB-DiHcRed1 | 500671**Загальна інформація****Description**

NRK-IBB-DiHcRed1 - це модифікована клітинна лінія, отримана з клітин нормальної нирки щура (NRK), сконструйована для експресії червоного флуоресцентного білка DiHcRed1. Ця модифікація дозволяє дослідникам відстежувати та візуалізувати клітинні процеси в режимі реального часу за допомогою флуоресцентної мікроскопії. Стабільна червона флуоресценція ідеально підходить для візуалізації живих клітин, полегшуючи дослідження міграції, поділу та морфології клітин.

Клітинна лінія зберігає типові характеристики клітин NRK, включаючи епітеліоподібну морфологію і нормальну проліферацію, що робить її надійною моделлю для вивчення поведінки клітин ссавців. Червона флуоресценція також дозволяє мультиплексувати з іншими маркерами, що розширює можливості її використання в клітинній біології, дослідженнях раку та скринінгу лікарських засобів.

Organism Щур**Tissue** Нирка**Synonyms** NRK IBB-DiHcRed1**Характеристики****Breed/Subspecies** Осборн-Мендель**Morphology** Фібробластоподібні клітини веретеноподібної форми**Growth properties** Одношаровий, адгезійний**Нормативні дані****Citation** NRK-IBB-DiHcRed1 (номер за каталогом Cytion 500671)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10116**CellosaurusAccession** CVCL_AV95**Depositor** Лабораторія Елленберга (EMBL)**Біомолекулярні дані**

Клітини NRK-IBB-DiHcRed1 | 500671

Receptors expressed	Епідермальний фактор росту (EGF), активність, що стимулює розмноження (MSA)
Protein expression	IBB-DiHcRed1: Розташування/ген: 1..589 / Pcmv, 656.916 / IBB, 932.1615 , 1670.2356 / HcRed1, 3587.4381 / KanR/NeoR
Products	Промотор CMV IBB (Ribbeck & Gorlich 2002), неоміцин, фосфотрансфераза, епідермальний фактор росту, активність, що стимулює розмноження

Обробка

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 г/л Глюкоза, w: 4 мМ L-глутамін, w: 3,7 г/л NaHCO ₃ , w: 1,0 мМ піруват натрію (цит. номер 820300a)
Supplements	Додайте до середовища 10% FBS, 0,5 мг/мл G418
Dissociation Reagent	Аккутаза
Subculturing	Викиньте старе середовище і промийте клітини PBS. Додайте свіжоприготований 0,025% розчин трипсину/0,02% розчин EDTA, нагрітий до 37 градусів Цельсія, і зачекайте, поки клітини відокремляться, що зазвичай займає близько 5 хвилин. Нейтралізуйте трипсин, додавши свіже середовище, потім перенесіть клітинну суміш у пробірку і центрифугуйте. Після центрифугування видаліть надосадову рідину, ресуспендуйте осад клітин у свіжому живильному середовищі та перенесіть суспензію в нові колби. Додайте G418 в культуральне середовище для досягнення кінцевої концентрації 0,5 мг/мл
Seeding density	Від 2 до 4 x 10 ⁴ клітин/см ²
Fluid renewal	2-3 рази на тиждень
Freeze medium	Як середовище кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

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

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте криовіал при температурі нижче -150°C , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануливши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи криовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при $300 \times g$ протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтеся встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , волога атмосфера.

Flask Coating

Для оптимального прикріплення та життєздатності після розморожування ми рекомендуємо використовувати **колби або пластини з колагеновим покриттям**.

**Freezing
Procedure**

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78°C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Клітини NRK-IBB-DiHcRed1 | 500671

Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірених ізольованих упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Storage Conditions

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості / Генетичний профіль / HLA

Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.