

Cellules NRK-IBB-DiHcRed1 | 500671**Renseignements généraux****Description**

NRK-IBB-DiHcRed1 est une lignée cellulaire modifiée dérivée de cellules rénales normales de rat (NRK), conçue pour exprimer la protéine fluorescente rouge DiHcRed1. Cette modification permet aux chercheurs de suivre et de visualiser les processus cellulaires en temps réel à l'aide de la microscopie à fluorescence. La fluorescence rouge stable est idéale pour l'imagerie de cellules vivantes, facilitant ainsi les études sur la migration, la division et la morphologie cellulaires.

La lignée cellulaire conserve les caractéristiques typiques des cellules NRK, notamment une morphologie de type épithélial et une prolifération normale, ce qui en fait un modèle fiable pour l'étude du comportement des cellules de mammifères. La fluorescence rouge permet également le multiplexage avec d'autres marqueurs, ce qui améliore l'utilisation en biologie cellulaire, en recherche sur le cancer et dans le criblage de médicaments.

Organism Rat**Tissue** Rein**Synonyms** NRK IBB-DiHcRed1**Caractéristiques****Breed/Subspecies** OsborneMendel**Morphology** Cellules de type fibroblastes de forme fusiforme**Growth properties** Monocouche, adhérente**Données réglementaires****Citation** NRK-IBB-DiHcRed1 (numéro de catalogue Cytion 500671)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10116**CellosaurusAccession** CVCL_AV95**Depositor** Le laboratoire Ellenberg (EMBL)

Cellules NRK-IBB-DiHcRed1 | 500671

Données biomoléculaires

Receptors expressed	Facteur de croissance épidermique (EGF), activité stimulatrice de la multiplication (MSA)
Protein expression	IBB-DiHcRed1 : Emplacement/gène : 1..589 / Pcmv, 656..916 / IBB, 932..1615, 1670..2356 / HcRed1, 3 587..4 381 / KanR/NeoR
Products	Promoteur IBB du CMV (Ribbeck et Gorlich, 2002), néomycine, phosphotransférase, facteur de croissance épidermique, activité stimulant la multiplication

Manipulation

Culture Medium	DMEM, p/v : 4,5 g/L de glucose, p/v : 4 mM de L-glutamine, p/v : 3,7 g/L de NaHCO ₃ , p/v : 1,0 mM de pyruvate de sodium (référence Cytion 820300a)
Supplements	Ajouter au milieu 10 % de FBS et 0,5 mg/mL de G418
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Jetez l'ancien milieu et lavez les cellules avec du PBS. Ajouter une solution fraîchement préparée de 0,025 % de trypsine et 0,02 % d'EDTA, chauffée à 37 degrés Celsius, et attendre que les cellules se détachent, ce qui prend habituellement environ 5 minutes. Neutraliser la trypsine en ajoutant du milieu frais, puis transférer le mélange cellulaire dans un tube et centrifuger. Après la centrifugation, retirer le surnageant, remettre le culot cellulaire en suspension dans du milieu de culture frais, puis transférer la suspension dans de nouveaux flacons. Incorporer du G418 dans le milieu de culture pour obtenir une concentration finale de 0,5 mg/ml.
Seeding density	de 2 à 4 × 10 ⁴ cellules/cm ²
Fluid renewal	2 à 3 fois par semaine
Freeze medium	Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (contenant du sérum fœtal bovin) + 10 % de DMSO pour assurer une viabilité adéquate après décongélation, ou du CM-1 (référence Cytion 800100), qui contient des osmoprotecteurs et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryoconservation.

Cellules NRK-IBB-DiHcRed1 | 500671

Thawing and Culturing Cells

1. Assurez-vous que le flacon reste bien congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche afin de maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. À la réception, conservez immédiatement le cryofiole à une température inférieure à $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ pour garantir la préservation de l'intégrité cellulaire, ou passez à l'étape 3 si une culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une culture immédiate, décongelez rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ contenant de l'eau propre et un agent antimicrobien, en agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit morceau de glace.
4. Effectuez toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux laminaire, en désinfectant le cryotube avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrez avec précaution le flacon désinfecté et transférez la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant délicatement.
6. Centrifuger le mélange à $300 \times g$ pendant 3 minutes pour séparer les cellules, puis jeter avec précaution le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre délicatement le culot cellulaire en suspension dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension dans deux flacons de culture T25; pour les cultures en suspension, transférer la totalité du milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance cellulaires efficaces.
8. Respectez les protocoles de sous-culture établis pour assurer la croissance continue et le maintien de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % de CO_2 , atmosphère humidifiée.

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées dans de la glace sèche, dans un emballage isotherme validé contenant suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ pendant tout le transport. À la réception, inspectez immédiatement le conteneur et transférez sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placez les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre environ -150 et $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$. L'entreposage à $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ n'est acceptable qu'à titre d'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Cellules NRK-IBB-DiHcRed1 | 500671

Contrôle de la qualité et analyse moléculaire

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes par luminescence.

Afin de s'assurer qu'il n'y a aucune contamination bactérienne, fongique ou par des levures, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.