Product sheet

Клетки NRK-EGFP-H2B | 500724

Обща информация

Description	Клетъчната линия NRK-EGFP-H2B е генетично модифициран вариант на нормални плъши бъбречни клетки (NRK), които стабилно експресират усилен зелен флуоресцентен протеин (EGFP), свързан с хистон H2B. Тази модификация позволява визуализиране на хроматина и ядрената динамика в реално време, което прави тази клетъчна линия безценен инструмент за изследване на прогресията на клетъчния цикъл, митозата и организацията на хроматина. Стабилната експресия на EGFP-H2B осигурява ярък и постоянен флуоресцентен сигнал, улесняващ изобразяването на живи клетки с висока резолюция и позволяващ на изследователите да наблюдават ядрените събития с голяма прецизност. Клетките NRK, произхождащи от бъбречната тъкан на възрастен плъх, се използват широко в клетъчната биология поради стабилните им характеристики на растеж и добре документираното физиологично поведение. Въвеждането на фюжън протеина EGFP-H2B в тези клетки не променя значително техния растеж или морфология, което позволява надеждни и възпроизводими експериментални условия. Тази клетъчна линия е особено полезна при изследвания на биологията на бъбречните клетки, клетъчните реакции към стрес и механизмите на канцерогенезата, като се има предвид ролята на бъбреците за филтриране на кръвта и отделяне на отпадъците. Освен това възможностите за флуоресценция на NRK-EGFP-H2B клетките могат да се използват в приложения за скрининг на лекарства, за да се наблюдават ефектите на лекарствата върху клетъчната пролиферация и ядрената морфология в реално време.
Organism	Плъх
Tissue	Бъбреци
Synonyms	NRK EGFP-H2B

Характеристики

Breed/Subspecies	OsborneMendel
Morphology	Фибробластоподобни клетки с фузиформена форма
Growth properties	Монослой, прилепнал

Регулаторни данни

Citation	NRK-EGFP-H2B (каталожен номер 500724 на Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10116

Клетки NRK-EGFP-H2B | 500724

CellosaurusAccession	CVCL_AV92
Depositor	Лабораторията на Елънбърг (EMBL)

Биомолекулярни данни

Receptors expressed	Епидермален растежен фактор (EGF), стимулираща мултипликацията активност (MSA)
Protein expression	EGFP-H2B: Местоположение/ген: 1..589 / Pcmv, 613..1329 / EGFP, 1387..1764 / H2B, 3001..3795 / KanR/NeoR
Products	Епидермален растежен фактор (EGF), стимулираща мултипликацията активност (MSA), CMV Promotor Хистон H2B, неомицин, фосфотрансфераза

Работа с

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L глюкоза, w: 4 mM L-глутамин, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM натриев пируват (номер на изделието на Cytion 820300a)
Supplements	Допълнете средата с 10% FBS, 0,5 mg/ml G418
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Изхвърлете старата среда и промийте клетките с PBS. Добавете прясно приготвен 0,025% разтвор на трипсин/0,02% EDTA, загрят до 37 градуса по Целзий, и изчакайте, докато клетките се отделят, което обикновено отнема около 5 минути. Неутрализирайте трипсина, като добавите прясна среда, след което прехвърлете клетъчната смес в епруветка и центрофугирайте. След центрофугирането отстранете супернатантата, ресуспендирайте клетъчната пелета в прясна хранителна среда и прехвърлете суспензията в нови колби. Включете G418 в хранителната среда, за да достигнете крайна концентрация от 0,5 mg/ml
Seeding density	2 до 4 x 10^{4} клетки/cm^{2}
Fluid renewal	2 до 3 пъти седмично
Freeze medium	Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки NRK-EGFP-H2B | 500724

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.

2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под -150 °C, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.

3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура 37 °C, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.

4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.

5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбъркате внимателно.

6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.

7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.

8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, овлажнена атмосфера.

Flask Coating

За оптимално прикрепване и жизнеспособност след размразяване препоръчваме да се използват **колби или плаки с колагеново покритие**.

Freezing Procedure

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки NRK-EGFP-H2B | 500724

Shipping Conditions	Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.
Storage Conditions	За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility	Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма. За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.