

NRK-EGFP-H2B-celler | 500724

Generel information

Description

NRK-EGFP-H2B-cellelinjen er en genetisk modificeret variant af normale rottenyreceller (NRK), som stabilt udtrykker det forstærkede grønne fluorescerende protein (EGFP), der er fusioneret med histon H2B. Denne modifikation giver mulighed for realtidsvisualisering af kromatin og kernaldynamik, hvilket gør denne cellelinje til et uvurderligt værktøj til at studere celleyklusprogression, mitose og kromatinorganisation. Det stabile udtryk af EGFP-H2B giver et klart og konsistent fluorescerende signal, der muliggør levende cellebilleder i høj opløsning og gør det muligt for forskere at overvåge nukleare begivenheder med stor præcision.

NRK-celler, der stammer fra nyrevæv fra en voksen rotte, bruges i vid udstrækning i cellebiologi på grund af deres robuste vækstegenskaber og veldokumenterede fysiologiske adfærd. Indførelsen af EGFP-H2B-fusionsproteinet i disse celler ændrer ikke deres vækst eller morfologi væsentligt, hvilket giver mulighed for pålidelige og reproducerbare forsøgsbetingelser. Denne cellelinje er særlig nyttig i undersøgelser af nyrecellers biologi, cellulære reaktioner på stress og mekanismer for kræftfremkaldelse, da nyrerne spiller en rolle i filtreringen af blod og udskillelsen af affaldsstoffer. Derudover kan NRK-EGFP-H2B-cellerne fluorescensegenskaber udnyttes til screening af lægemidler for at observere lægemidlers effekt på celleproliferation og kernemorfologi i realtid.

Organism Rotte**Tissue** Nyre**Synonyms** NRK EGFP-H2B

Karakteristika

Breed/Subspecies OsborneMendel**Morphology** Fibroblastlignende celler med fusiform form**Growth properties** Monolag, klæbende

Regulatoriske data

Citation NRK-EGFP-H2B (Cytion katalognummer 500724)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10116**CellosaurusAccession** CVCL_AV92

NRK-EGFP-H2B-celler | 500724

Depositor	Ellenberg-laboratoriet (EMBL)
------------------	-------------------------------

Biomolekylære data

Receptors expressed	Epidermal vækstfaktor (EGF), multiplikationsstimulerende aktivitet (MSA)
----------------------------	--

Protein expression	EGFP-H2B: Placering/gen: 1..589 / Pcmv, 613..1329 / EGFP, 1387..1764 / H2B, 3001..3795 / KanR/NeoR
---------------------------	--

Products	Epidermal vækstfaktor (EGF), multiplikationsstimulerende aktivitet (MSA), CMV Promotor Histone H2B, Neomycin, Phosphotransferase
-----------------	--

Håndtering

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glukose, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)
-----------------------	---

Supplements	Suppler mediet med 10% FBS, 0,5 mg/mL G418
--------------------	--

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

Subculturing	Kassér det gamle medium, og vask cellerne med PBS. Tilsæt en frisklavet 0,025 % trypsin/0,02 % EDTA-opløsning, der er opvarmet til 37 grader Celsius, og vent, indtil cellerne løsner sig, hvilket normalt tager ca. 5 minutter. Neutraliser trypsinen ved at tilsætte frisk medium, overfør derefter celleblandingen til et rør og centrifuger. Efter centrifugering fjernes supernatanten, cellepelleten resuspenderes i frisk dyrkningsmedium, og suspensionen overføres til nye kolber. Tilsæt G418 til dyrkningsmediet for at opnå en endelig koncentration på 0,5 mg/ml
---------------------	---

Split ratio	Det anbefales at bruge et forhold på 1:3 til 1:4
--------------------	--

Seeding density	2 til 4 x 10 ⁴ celler/cm ²
------------------------	--

Fluid renewal	2 til 3 gange om ugen
----------------------	-----------------------

Freeze medium	Som kryopræservationsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryoinduceret stress.
----------------------	---

NRK-EGFP-H2B-celler | 500724

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under -150 °C for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et 37 °C varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved 300 x g i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , befugtet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

NRK-EGFP-H2B-celler | 500724

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol og molekylær analyse

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.