

NRK-EGFP-H2B rakud | 500724

Üldine teave

Description

NRK-EGFP-H2B rakuliin on geneetiliselt muundatud normaalsete roti neerude (NRK) rakkude variant, mis ekspresseerib stabiilselt histoon H2B-ga fundeeritud tugevdatud rohelist fluorestseeruvat valku (EGFP). See modifikatsioon võimaldab kromatiini ja tuumadünaamika visualiseerimist reaajas, muutes selle rakuliini hindamatuks vahendiks rakutsükli edenemise, mitoosi ja kromatiini korralduse uurimisel. EGFP-H2B stabiilne ekspressioon annab heleda ja järjepideva fluorestseeruva signaali, mis hõlbustab kõrgresolutsiooniga elusraku kujutamist ja võimaldab teadlastel jälgida tuumasündmusi väga täpselt.

NRK rakke, mis pärinevad täiskasvanud roti neerukoest, kasutatakse rakubioloogias laialdaselt nende tugevate kasvuomaduste ja hästi dokumenteeritud füsioloogilise käitumise tõttu. EGFP-H2B fusioonvalgu lisamine nendesse rakkudesse ei muuda oluliselt nende kasvu ega morfoloogiat, võimaldades usaldusväärseid ja korratavaid katsetingimusi. See rakuliin on eriti kasulik neerurakkude bioloogia, rakkude stressile reageerimise ja kantserogeneesi mehhanismide uurimisel, arvestades neerude rolli vere filtreerimisel ja jäätmete väljutamisel. Lisaks saab NRK-EGFP-H2B rakkude fluorestsentsi võimeid kasutada ravimite sõeluuringutes, et jälgida ravimite mõju rakkude proliferatsioonile ja tuumamorfoloogiale reaajas.

Organism

Rott

Tissue

Neerud

Synonyms

NRK EGFP-H2B

Omadused

Breed/Subspecies

OsborneMendel

Morphology

Fibroblastitaolised fusiformse kujuga rakud

Growth properties

Monokihiline, kleepuv

Regulatiivsed andmed

Citation

NRK-EGFP-H2B (Cytioni katalooginumber 500724)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

10116

CellosaurusAccession

CVCL_AV92

NRK-EGFP-H2B rakud | 500724

Depositor Ellenbergi labor (EMBL)

Biomolekulaarsed andmed

Receptors expressed Epidermise kasvufaktor (EGF), paljunemist stimuleeriv toime (MSA)

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

Products Epidermise kasvufaktor (EGF), paljunemist stimuleeriv aktiivsus (MSA), CMV Promotor Histoon H2B, Neomütsiin, fosfotransferaas

Töötlemine

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L glükoosi, w: 4 mM L-glutamiini, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM naatriumpüruvaati (Cytioni artikli number 820300a)

Supplements Täiendada söötme 10% FBS, 0,5 mg/ml G418-ga

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Visake vana söötme ära ja peske rakud PBSiga. Lisage värskest valmistatud 0,025% trüpsiini/0,02% EDTA lahust, mida on kuumutatud 37 kraadini, ja oodake, kuni rakud eralduvad, mis tavaliselt võtab umbes 5 minutit. Neutraliseerige trüpsiin, lisades värsket keskkonda, seejärel viige rakusegu katseklaasi ja tsentrifuugige. Pärast tsentrifuugimist eemaldage supernatant, resuspenseerige rakupellet värskes söötmes ja viige suspensioon uutesse kolvidesse. Lisage G418 kultuurikeskkonda, et saavutada lõppkontsentratsioon 0,5 mg/ml

Split ratio Soovitav on suhe 1:3 kuni 1:4

Seeding density 2 kuni 4×10^4 rakku/cm²

Fluid renewal 2 kuni 3 korda nädalas

Freeze medium Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

NRK-EGFP-H2B rakud | 500724

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

**Freezing
Procedure**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Shipping
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

NRK-EGFP-H2B rakud | 500724

**Storage
Conditions**

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.