

NRK-EGFP-H2B-solut | 500724

Yleisiä tietoja

Description

NRK-EGFP-H2B-solulinja on geneettisesti muunnettu muunnos normaaleista rotan munuaissoluista (NRK), jotka ilmentävät pysyvästi tehostettua vihreää fluoresoivaa proteiinia (EGFP), joka on fuusioitu histoni H2B:hen. Tämä modifikaatio mahdollistaa kromatiinin ja ydindynamiikan reaaliaikaisen visualisoinnin, mikä tekee tästä solulinjasta korvaamattoman arvokkaan työkalun solusyklin etenemisen, mittoosin ja kromatiinin organisaation tutkimiseen. EGFP-H2B:n vakaa ilmentyminen tuottaa kirkkaan ja johdonmukaisen fluoresoivan signaalin, mikä helpottaa korkearesoluutioista elävän solun kuvantamista ja antaa tutkijoille mahdollisuuden seurata ydintoimintoja erittäin tarkasti.

NRK-soluja, jotka ovat peräisin aikuisen rotan munuaiskudoksesta, käytetään laajalti solubiologiassa niiden vankkojen kasvuominaisuuksien ja hyvin dokumentoidun fysiologisen käyttäytymisen vuoksi. EGFP-H2B-fuusioproteiinin tuominen näihin soluihin ei muuta merkittävästi niiden kasvua tai morfologiaa, mikä mahdollistaa luotettavat ja toistettavat koeolosuhteet. Tämä solulinja on erityisen hyödyllinen munuaissolujen biologian, solujen stressivasteiden ja karsinogeneesin mekanismien tutkimisessa, koska munuaiset suodattavat verta ja erittävät jätteitä. Lisäksi NRK-EGFP-H2B-solujen fluoresenssiominaisuuksia voidaan hyödyntää lääkeaineiden seulantavelluksissa, joissa voidaan tarkkailla reaaliaikaisesti lääkeaineiden vaikutuksia solujen proliferaatioon ja ydinmorfologiaan.

Organism Rotta

Tissue Munuaiset

Synonyms NRK EGFP-H2B

Ominaisuudet

Breed/Subspecies OsborneMendel

Morphology Fibroblastin kaltaiset solut, joilla on fusiforminen muoto

Growth properties Yksikerroksinen, tarttuva

Säätelytiedot

Citation NRK-EGFP-H2B (Cytionin luettelonumero 500724)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10116

NRK-EGFP-H2B-solut | 500724

CellosaurusAccession CVCL_AV92**Depositor** Ellenbergin laboratorio (EMBL)**Biomolekyylitiedot****Receptors expressed** Epiderminen kasvutekijä (EGF), lisääntymistä stimuloiva aktiivisuus (MSA)**Protein expression** EGFP-H2B: Sijainti/geeni: 1..589 / Pcmv, 613..1329 / EGFP, 1387..1764 / H2B, 3001..3795 / KanR/NeoR**Products** Epiderminen kasvutekijä (EGF), lisääntymistä stimuloiva aktiivisuus (MSA), CMV Promotor Histoni H2B, Neomysiini, fosfotransferaasi, fosfotransferaasi**Käsittely****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukoosia, w: 4 mM L-glutamiinia, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM natriumpyruvaattia (Cytionin artikkelinumero 820300a)**Supplements** Täydennetään elatusainetta 10 % FBS:llä, 0,5 mg/ml G418:lla**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Hävitä vanha väliaine ja pese solut PBS:llä. Lisätään tuore 0,025-prosenttinen trypsiini/0,02-prosenttinen EDTA-liuos, joka on lämmitetty 37 celsiusasteeseen, ja odotetaan, kunnes solut irtoavat, mikä kestää yleensä noin 5 minuuttia. Neutraloi trypsiini lisäämällä tuoretta elatusainetta, siirrä soluseos putkeen ja sentrifugoi. Sentrifugoinnin jälkeen poista supernatantti, suspendoi solupelletti uudelleen tuoreessa kasvatusmediassa ja siirrä suspensio uusiin pulloihin. Lisää G418:a elatusaineeseen, jotta saavutetaan 0,5 mg/ml:n lopullinen pitoisuus**Split ratio** Suositeltava suhde on 1:3–1:4**Seeding density** 2–4 x 10⁴ solua/cm²**Fluid renewal** 2-3 kertaa viikossa**Freeze medium** Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelunumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

NRK-EGFP-H2B-solut | 500724

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Ei mitään

**Freezing
Procedure**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

**Shipping
Conditions**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

NRK-EGFP-H2B-solut | 500724

Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.