

Cellules NRK-EGFP-H2B | 500724**Informations générales****Description**

La lignée cellulaire NRK-EGFP-H2B est une variante génétiquement modifiée des cellules rénales normales de rat (NRK) qui expriment de façon stable la protéine fluorescente verte améliorée (EGFP) fusionnée à l'histone H2B. Cette modification permet de visualiser en temps réel la chromatine et la dynamique nucléaire, ce qui fait de cette lignée cellulaire un outil précieux pour l'étude de la progression du cycle cellulaire, de la mitose et de l'organisation de la chromatine. L'expression stable d'EGFP-H2B fournit un signal fluorescent brillant et constant, facilitant l'imagerie à haute résolution des cellules vivantes et permettant aux chercheurs de suivre les événements nucléaires avec une grande précision.

Les cellules NRK, qui proviennent du tissu rénal d'un rat adulte, sont largement utilisées en biologie cellulaire en raison de leurs caractéristiques de croissance robustes et de leurs comportements physiologiques bien documentés. L'introduction de la protéine de fusion EGFP-H2B dans ces cellules ne modifie pas de manière significative leur croissance ou leur morphologie, ce qui permet d'obtenir des conditions expérimentales fiables et reproductibles. Cette lignée cellulaire est particulièrement utile pour l'étude de la biologie des cellules rénales, des réponses cellulaires au stress et des mécanismes de la cancérogenèse, étant donné le rôle du rein dans la filtration du sang et l'excrétion des déchets. En outre, les capacités de fluorescence des cellules NRK-EGFP-H2B peuvent être exploitées dans des applications de criblage de médicaments afin d'observer en temps réel les effets des médicaments sur la prolifération cellulaire et la morphologie nucléaire.

Organism Rat**Tissue** Rein**Synonyms** NRK EGFP-H2B**Caractéristiques****Breed/Subspecies** OsborneMendel**Morphology** Cellules de forme fusiforme ressemblant à des fibroblastes**Growth properties** Monocouche, adhérente**Données réglementaires****Citation** NRK-EGFP-H2B (numéro de catalogue Cytion 500724)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10116

Cellules NRK-EGFP-H2B | 500724

CellosaurusAccession CVCL_AV92**Depositor** Le laboratoire Ellenberg (EMBL)**Données biomoléculaires****Receptors expressed** Facteur de croissance épidermique (EGF), activité stimulant la multiplication (MSA)**Protein expression** EGFP-H2B : Localisation/Gène : 1..589 / Pcmv, 613..1329 / EGFP, 1387..1764 / H2B, 3001..3795 / KanR/NeoR**Products** Facteur de croissance épidermique (EGF), activité stimulant la multiplication (MSA), promoteur CMV Histone H2B, Néomycine, Phosphotransférase**Manipulation****Culture Medium** DMEM, w : 4.5 g/L Glucose, w : 4 mM L-Glutamine, w : 3.7 g/L NaHCO₃, w : 1.0 mM Pyruvate de sodium (numéro d'article Cytion 820300a)**Supplements** Compléter le milieu avec 10 % de FBS, 0,5 mg/mL de G418**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Jeter l'ancien milieu et laver les cellules avec du PBS. Ajouter une solution fraîchement préparée de 0,025 % de trypsine/0,02 % d'EDTA chauffée à 37 degrés Celsius et attendre que les cellules se détachent, ce qui prend généralement environ 5 minutes. Neutraliser la trypsine en ajoutant du milieu frais, puis transférer le mélange de cellules dans un tube et centrifuger. Après centrifugation, éliminer le surnageant, remettre le culot cellulaire en suspension dans du milieu de culture frais et transférer la suspension dans de nouveaux flacons. Incorporer G418 dans le milieu de culture pour obtenir une concentration finale de 0,5 mg/ml**Split ratio** Un rapport de 1:3 à 1:4 est recommandé**Seeding density** 2 à 4 x 10⁴ cellules/cm²**Fluid renewal** 2 à 3 fois par semaine**Freeze medium** Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (comprenant du FBS) + 10 % de DMSO pour une viabilité adéquate après décongélation, ou CM-1 (numéro de catalogue 800100 de Cytion), qui comprend des osmoprotectants et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryogénéisation.

Cellules NRK-EGFP-H2B | 500724

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.
4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.
6. Centrifuger le mélange à $300 \times g$ pendant 3 minutes pour séparer les cellules et jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre doucement en suspension le culot cellulaire dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension entre deux flacons de culture T25 ; pour les cultures en suspension, transférer tout le milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance efficaces des cellules.
8. Respecter les protocoles de sous-culture établis pour une croissance et un entretien continus de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosphère humidifiée.

Flask Coating

Aucun

Freezing Procedure

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78°C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Cellules NRK-EGFP-H2B | 500724

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle de qualité / Profil génétique / HLA

Sterility

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

Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.