

NRK-EGFP-H2B sejtek | 500724

Általános információk

Description

Az NRK-EGFP-H2B sejt vonal a normál patkányvese (NRK) sejtek genetikailag módosított változata, amely stabilan expresszálja a H2B hisztonhoz fuzionált, fokozottan zöld fluoreszkáló fehérjét (EGFP). Ez a módosítás lehetővé teszi a kromatin és a nukleáris dinamika valós idejű vizualizálását, így ez a sejt vonal felbecsülhetetlen értékű eszközzé válik a sejt ciklus progressziójának, a mitózisnak és a kromatin szerveződésének tanulmányozására. Az EGFP-H2B stabil expressziója fényes és konzisztens fluoreszcens jelet biztosít, ami megkönnyíti a nagy felbontású élősejtes képalkotást, és lehetővé teszi a kutatók számára a nukleáris események nagy pontosságú nyomon követését.

A felnőtt patkányok veseszövetéből származó NRK sejteket robusztus növekedési tulajdonságaik és jól dokumentált fiziológiai viselkedésük miatt széles körben használják a sejtbiológiában. Az EGFP-H2B fúziós fehérje bevitelével ezekbe a sejtekbe nem változtatja meg jelentősen növekedésüket vagy morfológiájukat, ami megbízható és reprodukálható kísérleti feltételeket tesz lehetővé. Ez a sejt vonal különösen hasznos a vesesejtek biológiájának, a stresszre adott sejt válaszoknak és a karcinogenezis mechanizmusainak tanulmányozásában, tekintettel a vese vérszűrésben és a salakanyagok kiválasztásában betöltött szerepére. Emellett az NRK-EGFP-H2B sejtek fluoreszcens képességei felhasználhatók a gyógyszer-szűrési alkalmazásokban, hogy valós időben megfigyeljék a gyógyszerek sejtproliferációra és a sejt mag morfológiájára gyakorolt hatását.

Organism Patkány

Tissue Vese

Synonyms NRK EGFP-H2B

Jellemzők

Breed/Subspecies OsborneMendel

Morphology Fibroblaszt-szerű, fusiform alakú sejtek

Growth properties Monoréteg, tapadó

Szabályozási adatok

Citation NRK-EGFP-H2B (Cytion katalógusszám: 500724)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10116

NRK-EGFP-H2B sejtek | 500724

CellosaurusAccession CVCL_AV92**Depositor** Az Ellenberg Labor (EMBL)**Biomolekuláris adatok****Receptors expressed** Epidermális növekedési faktor (EGF), szaporodást serkentő aktivitás (MSA)**Protein expression** EGFP-H2B: Hely/gén: 1..589 / Pcmv, 613..1329 / EGFP, 1387..1764 / H2B, 3001..3795 / KanR/NeoR**Products** Epidermális növekedési faktor (EGF), szaporodást serkentő aktivitás (MSA), CMV promotor Hiszton H2B, neomicin, foszfortranszferáz**A kezelése****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glükóz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM nátrium-piruvát (Cytion cikkszám 820300a)**Supplements** A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel, 0,5 mg/ml G418-zal**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Dobja ki a régi tápfolyadékot, és mossa ki a sejteket PBS-szel. Adjunk hozzá frissen készített 0,025%-os tripszin/0,02%-os EDTA oldatot 37 Celsius-fokra melegítve, és várjuk meg, amíg a sejtek leválnak, ami általában körülbelül 5 percig tart. Semlegesítse a tripszint friss tápfolyadék hozzáadásával, majd helyezze át a sejtkeveréket egy csőbe és centrifugálja. A centrifugálás után távolítsa el a felülúszót, reszuszpendálja a sejt pelletet friss táptalajban, és a szuszpenziót helyezze át új lombikba. Adjunk a táptalajhoz G418-at, hogy 0,5 mg/ml végkoncentrációt érjünk el**Split ratio** 1:3 és 1:4 közötti arányt javasolunk**Seeding density** 2–4 x 10⁴ sejt/cm²**Fluid renewal** hetente 2-3 alkalommal**Freeze medium** Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

NRK-EGFP-H2B sejtek | 500724

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150 °C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37 °C -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a krioüklét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejt kölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C , 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

Nincs

**Freezing
Procedure**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

**Shipping
Conditions**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

NRK-EGFP-H2B sejtek | 500724

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatói módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.