

Cellule NRK-EGFP-H2B | 500724**Informazioni generali****Description**

La linea cellulare NRK-EGFP-H2B è una variante geneticamente modificata di cellule di rene normale di ratto (NRK) che esprime stabilmente la proteina verde fluorescente potenziata (EGFP) fusa con l'istone H2B. Questa modifica consente la visualizzazione in tempo reale della cromatina e delle dinamiche nucleari, rendendo questa linea cellulare uno strumento prezioso per lo studio della progressione del ciclo cellulare, della mitosi e dell'organizzazione della cromatina. L'espressione stabile di EGFP-H2B fornisce un segnale fluorescente brillante e costante, facilitando l'imaging ad alta risoluzione delle cellule vive e consentendo ai ricercatori di monitorare gli eventi nucleari con grande precisione.

Le cellule NRK, provenienti dal tessuto renale di un ratto adulto, sono ampiamente utilizzate in biologia cellulare grazie alle loro robuste caratteristiche di crescita e ai comportamenti fisiologici ben documentati. L'introduzione della proteina di fusione EGFP-H2B in queste cellule non altera significativamente la loro crescita o morfologia, consentendo condizioni sperimentali affidabili e riproducibili. Questa linea cellulare è particolarmente utile negli studi sulla biologia delle cellule renali, sulle risposte cellulari allo stress e sui meccanismi di carcinogenesi, dato il ruolo del rene nel filtrare il sangue e nell'espellere i rifiuti. Inoltre, le capacità di fluorescenza delle cellule NRK-EGFP-H2B possono essere sfruttate in applicazioni di screening farmacologico per osservare gli effetti dei farmaci sulla proliferazione cellulare e sulla morfologia nucleare in tempo reale.

Organism Ratto**Tissue** Rene**Synonyms** NRK EGFP-H2B**Caratteristiche****Breed/Subspecies** OsborneMendel**Morphology** Cellule simili a fibroblasti con forma fusiforme**Growth properties** Monostrato, aderente**Dati normativi****Citation** NRK-EGFP-H2B (numero di catalogo Cytion 500724)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10116

Cellule NRK-EGFP-H2B | 500724

CellosaurusAccession CVCL_AV92**Depositor** Il laboratorio Ellenberg (EMBL)**Dati biomolecolari****Receptors expressed** Fattore di crescita epidermico (EGF), attività stimolante la moltiplicazione (MSA)**Protein expression** EGFP-H2B: Posizione/Gene: 1..589 / Pcmv, 613..1329 / EGFP, 1387..1764 / H2B, 3001..3795 / KanR/NeoR**Products** Fattore di crescita epidermico (EGF), attività stimolante la moltiplicazione (MSA), CMV Promotor Histone H2B, Neomicina, Fosfotransferasi**Manipolazione****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L di glucosio, w: 4 mM di L-Glutammina, w: 3,7 g/L di NaHCO₃, w: 1,0 mM di piruvato di sodio (articolo Cytion numero 820300a)**Supplements** Integrare il terreno di coltura con 10% FBS, 0,5 mg/mL G418**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Eliminare il vecchio terreno e lavare le cellule con PBS. Aggiungere una soluzione di tripsina 0,025%/0,02% EDTA appena preparata e riscaldata a 37 gradi Celsius e attendere che le cellule si stacchino, il che di solito richiede circa 5 minuti. Neutralizzare la tripsina aggiungendo terreno fresco, quindi trasferire la miscela di cellule in una provetta e centrifugare. Dopo la centrifugazione, rimuovere il surnatante, risospendere il pellet di cellule in terreno di coltura fresco e trasferire la sospensione in nuove fiasche. Incorporare G418 nel terreno di coltura per ottenere una concentrazione finale di 0,5 mg/ml**Split ratio** Si raccomanda un rapporto da 1:3 a 1:4**Seeding density** Da 2 a 4 x 10⁴ cellule/cm²**Fluid renewal** da 2 a 3 volte alla settimana**Freeze medium** Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelo, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

Cellule NRK-EGFP-H2B | 500724

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%_{CO2}, atmosfera umidificata.

Flask Coating

Nessuno

Freezing Procedure

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Cellule NRK-EGFP-H2B | 500724

Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo di qualità / Profilo genetico / HLA

Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.