Product sheet

NRK-EGFP-H2B ląstelės | 500724

Bendra informacija

Description	NRK-EGFP-H2B ląstelių linija yra genetiškai modifikuotas normalių žiurkių inkstų (NRK) ląstelių variantas, stabiliai ekspresuojantis sustiprintą žaliąjį fluorescuojantį baltymą (EGFP), sujungtą su histonu H2B. Ši modifikacija leidžia realiuoju laiku vizualizuoti chromatino ir branduolio dinamiką, todėl ši ląstelių linija yra neįkainojamas įrankis ląstelių ciklo eigai, mitozės ir chromatino organizacijai tirti. Stabili EGFP-H2B raiška užtikrina ryškų ir nuoseklų fluorescencinį signalą, palengvina didelės skiriamosios gebos gyvų ląstelių vaizdavimą ir leidžia mokslininkams labai tiksliai stebėti branduolinius įvykius. NRK ląstelės, kilusios iš suaugusių žiurkių inkstų audinio, plačiai naudojamos ląstelės biologijoje dėl jų tvirtų augimo savybių ir gerai dokumentuotos fiziologinės elgsenos. EGFP-H2B sintezės baltymo įvedimas į šias ląsteles iš esmės nekeičia jų augimo ar morfologijos, todėl galima užtikrinti patikimas ir atkuriamas eksperimentines sąlygas. Ši ląstelių linija ypač naudinga tiriant inkstų ląstelių biologiją, ląstelių atsaką į stresą ir kancerogenezės mechanizmus, atsižvelgiant į inkstų vaidmenį filtruojant kraują ir šalinant atliekas. Be to, NRK-EGFP-H2B ląstelių fluorescencinės savybės gali būti panaudotos atliekant vaistų atrankinę patikrą, kad realiuoju laiku būtų galima stebėti vaistų poveikį ląstelių dauginimuisi ir branduolio morfologijai.
Organism	Žiurkės
Tissue	Inkstai
Synonyms	NRK EGFP-H2B

Charakteristikos

Breed/Subspecies	OsborneMendel
Morphology	Į fibroblastus panašios ląstelės, kurių forma yra susiliejanti
Growth properties	Viensluoksnis, prigludęs

Reguliavimo duomenys

Citation	NRK-EGFP-H2B (Cytion katalogo numeris 500724)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10116
CellosaurusAccession	CVCL_AV92

NRK-EGFP-H2B ląstelės | 500724

Depositor	Ellenbergo laboratorija (EMBL)

Biomolekuliniai duomenys

Receptors expressed	Epidermio augimo veiksnys (EGF), dauginimąsi skatinantis aktyvumas (MSA)
Protein expression	EGFP-H2B: Vieta/genas: 1..589 / Pcmv, 613..1329 / EGFP, 1387..1764 / H2B, 3001..3795 / KanR/NeoR
Products	Epidermio augimo faktorius (EGF), dauginimąsi skatinantis aktyvumas (MSA), CMV Promotor Histonas H2B, neomicinas, fosfotransferazė

Tvarkymas

Culture Medium	DMEM, š: 4,5 g/l gliukozės, š: 4 mM L-glutamino, š: 3,7 g/l NaHCO3, š: 1,0 mM natrio piruvato (Cytion gaminio numeris 820300a)
Supplements	Papildykite terpę 10 % FBS, 0,5 mg/ml G418
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Išmeskite seną terpę ir nuplaukite ląsteles PBS. Įpilkite šviežiai paruošto 0,025 % tripsino/0,02 % EDTA tirpalo, pašildyto iki 37 °C temperatūros, ir palaukite, kol ląstelės atsiskirs (paprastai tai trunka apie 5 minutes). Neutralizuokite tripsiną, įpilkite šviežios terpės, tada perkelkite ląstelių mišinį į mėgintuvėlį ir centrifuguokite. Po centrifugavimo pašalinkite supernatantą, ląstelių granules vėl sutirpinkite šviežioje terpėje ir perpilkite suspensiją į naujas kolbas. Įmaišykite G418 į mitybinę terpę, kad galutinė koncentracija būtų 0,5 mg/ml
Split ratio	Rekomenduojamas santykis nuo 1:3 iki 1:4
Seeding density	2–4 x 10^4 ląstelės/cm^2
Fluid renewal	2-3 kartus per savaitę
Freeze medium	Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

NRK-EGFP-H2B ląstelės | 500724

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150 °C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37 °C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % $_{CO2}$, drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Nėra

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Storage Conditions	Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė ir molekulinė analizė

Sterility	Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus. Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.