

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 chromatiną ir branduolio dinamiką, todėl ši ląstelių linija yra neįkainojamas įrankis ląstelių ciklo eigai, mitozės ir chromatiną 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 ląstelių 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 proliferacijai ir branduolio morfologijai.

Organism Žiurkės

Tissue Inkstai

Synonyms NRK EGFP-H2B

Charakteristikos

Breed/Subspecies OsborneMendel

Morphology Į fibroblastus panašios ląstelės, kurių forma yra susiliejanči

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 perkelti 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 10⁴ ląstelės/cm²

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 perkelti 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 % CO_2 , 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 perkelti 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 perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

NRK-EGFP-H2B ląstelės | 500724

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 skystą azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

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.