

NRK-EGFP-H2B šūnas | 500724

Vispārīga informācija

Description

NRK-EGFP-H2B šūnu līnija ir ģenētiski modificēts normālu žurku nieru (NRK) šūnu variants, kas stabili ekspresē pastiprinātu zaļo fluorescējošo proteīnu (EGFP), kas sapludināts ar histonu H2B. Šī modifikācija ļauj reāllaikā vizualizēt hromatīna un kodola dinamiku, padarot šo šūnu līniju par nenovērtējamu rīku šūnu cikla norises, mitozes un hromatīna organizācijas izpētei. Stabila EGFP-H2B ekspresija nodrošina spilgtu un konsekventu fluorescējošu signālu, kas atvieglo augstas izšķirtspējas dzīvās šūnas attēlveidošanu un ļauj pētniekiem ļoti precīzi uzraudzīt kodola notikumus.

NRK šūnas, kas iegūtas no pieaugušu žurku nieru audiem, plaši izmanto šūnu bioloģijā, jo tām piemīt stabilas augšanas īpašības un labi dokumentētas fizioloģiskās īpašības. EGFP-H2B saplūšanas proteīna ieviešana šajās šūnās būtiski nemaina to augšanu vai morfoloģiju, kas ļauj nodrošināt uzticamus un reproducējamus eksperimentālos apstākļus. Šī šūnu līnija ir īpaši noderīga pētījumos par nieru šūnu bioloģiju, šūnu reakciju uz stresu un kancerogēzes mehānismiem, ņemot vērā nieru lomu asins filtrēšanā un atkritumu izvadīšanā. Turklāt NRK-EGFP-H2B šūnu fluorescences spējas var izmantot zāļu skrīninga lietojumos, lai reāllaikā novērotu zāļu ietekmi uz šūnu proliferāciju un kodola morfoloģiju.

Organism Žurkas

Tissue Nieres

Synonyms NRK EGFP-H2B

Raksturojums

Breed/Subspecies OsborneMendel

Morphology Fibroblastiem līdzīgas šūnas ar fusiformas formu

Growth properties Vienslāņa, adhēzija

Normatīvie dati

Citation NRK-EGFP-H2B (Cytion kataloga numurs 500724)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10116

CellosaurusAccession CVCL_AV92

NRK-EGFP-H2B šūnas | 500724

Depositor Ellenberga laboratorija (EMBL)

Biomolekulārie dati

Receptors expressed Epidermas augšanas faktors (EGF), multiplikāciju stimulējoša aktivitāte (MSA)

Protein expression EGFP-H2B: Atrašanās vieta/gēns: 1..589 / Pcmv, 613..1329 / EGFP, 1387..1764 / H2B, 3001..3795 / KanR/NeoR

Products Epidermas augšanas faktors (EGF), multiplikāciju stimulējoša aktivitāte (MSA), CMV Promotors Histons H2B, neomicīns, fosfotransferāze

Darbs ar

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/l glikozes, w: 4 mM L-glutamīna, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM nātrija piruvāta (Cytion izstrādājuma numurs 820300a)

Supplements Papildiniet barotni ar 10% FBS, 0,5 mg/ml G418

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Izmetiet veco barotni un izskalojiet šūnas ar PBS. Pievienojiet svaigi sagatavotu 0,025 % tripsīna/0,02 % EDTA šķīdumu, kas uzsildīts līdz 37 °C temperatūrai, un pagaidiet, līdz šūnas atdalās, kas parasti ilgst apmēram 5 minūtes. Neitralizēt tripsīnu, pievienojot svaigu barotni, pēc tam šūnu maisījumu pārvietot mēģenē un centrifugēt. Pēc centrifugēšanas noņemiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnu granulas svaigā barotnē un pārsiet suspensiju uz jaunām kolbām. Iekļaut G418 barotnē, lai sasniegtu galīgo koncentrāciju 0,5 mg/ml

Split ratio Ieteicamais proporcijas ir no 1:3 līdz 1:4

Seeding density 2 līdz 4 x 10⁴ šūnas/cm²

Fluid renewal 2 līdz 3 reizes nedēļā

Freeze medium Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanu un samazinātu krioinducēto stresu.

NRK-EGFP-H2B šūnas | 500724

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Neviens

Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

NRK-EGFP-H2B šūnas | 500724

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.