

Celule NRK-EGFP-H2B | 500724

Informații generale

Description

Linia celulară NRK-EGFP-H2B este o variantă modificată genetic a celulelor normale de rinichi de șobolan (NRK) care exprimă stabil proteina fluorescentă verde îmbunătățită (EGFP) fuzionată cu histona H2B. Această modificare permite vizualizarea în timp real a cromatinei și a dinamicii nucleare, făcând din această linie celulară un instrument inestimabil pentru studierea progresiei ciclului celular, a mitozei și a organizării cromatinei. Expresia stabilă a EGFP-H2B oferă un semnal fluorescent luminos și consistent, facilitând imagistica de înaltă rezoluție a celulelor vii și permițând cercetătorilor să monitorizeze evenimentele nucleare cu mare precizie.

Celulele NRK, provenite din țesutul renal al unui șobolan adult, sunt utilizate pe scară largă în biologia celulară datorită caracteristicilor lor robuste de creștere și comportamentelor fiziologice bine documentate. Introducerea proteinei de fuziune EGFP-H2B în aceste celule nu le modifică semnificativ creșterea sau morfologia, permițând condiții experimentale fiabile și reproductibile. Această linie celulară este deosebit de utilă în studiile privind biologia celulelor renale, răspunsurile celulare la stres și mecanismele de carcinogeneză, dat fiind rolul rinichiului în filtrarea sângelui și excreția deșeurilor. În plus, capacitățile de fluorescență ale celulelor NRK-EGFP-H2B pot fi exploatate în aplicații de screening al medicamentelor pentru a observa efectele medicamentelor asupra proliferării celulare și morfologiei nucleare în timp real.

Organism Șobolan

Tissue Rinichi

Synonyms NRK EGFP-H2B

Caracteristici

Breed/Subspecies OsborneMendel

Morphology Celule asemănătoare fibroblastelor cu formă fusiformă

Growth properties Monostrat, aderent

Date de reglementare

Citation NRK-EGFP-H2B (număr de catalog Cytion 500724)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10116

Celule NRK-EGFP-H2B | 500724

CellosaurusAccession CVCL_AV92**Depositor** Laboratorul Ellenberg (EMBL)

Date biomoleculare

Receptors expressed Factor de creștere epidermică (EGF), activitate de stimulare a multiplicării (MSA)**Protein expression** EGFP-H2B: Locație/Gene: 1..589 / Pcmv, 613..1329 / EGFP, 1387..1764 / H2B, 3001..3795 / KanR/NeoR**Products** Factor de creștere epidermică (EGF), activitate de stimulare a multiplicării (MSA), CMV Promotor Histona H2B, Neomicină, Fosfotransferază

Manipulare

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L glucoză, w: 4 mM L-glutamină, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM piruvat de sodiu (număr articol Cytion 820300a)**Supplements** Suplimentați mediul cu 10% FBS, 0,5 mg/mL G418**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Aruncați mediul vechi și spălați celulele cu PBS. Se adaugă o soluție proaspăt preparată de tripsină 0,025%/0,02% EDTA încălzită la 37 de grade Celsius și se așteaptă până când celulele se desprind, ceea ce durează de obicei aproximativ 5 minute. Neutralizați tripsina prin adăugarea de mediu proaspăt, apoi transferați amestecul de celule într-un tub și centrifugați. După centrifugare, îndepărtați supernatantul, resuspendați peletul celular în mediu de cultură proaspăt și transferați suspensia în flacoane noi. Încorporați G418 în mediul de cultură pentru a obține o concentrație finală de 0,5 mg/ml**Split ratio** Se recomandă un raport de 1:3 până la 1:4**Seeding density** 2 până la 4×10^4 cel^{ule}/cm²**Fluid renewal** de 2 până la 3 ori pe săptămână**Freeze medium** Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezghețare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanți optimizați și stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea și a reduce stresul indus de criogenie.

Celule NRK-EGFP-H2B | 500724

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual.
7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă.
8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosferă umidificată.

Flask Coating

Niciuna

Freezing Procedure

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Shipping Conditions

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Celule NRK-EGFP-H2B | 500724

Storage Conditions

Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

Controlul calității / Profil genetic / HLA

Sterility

Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență.

Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.