

NRK-EGFP-H2B-celler | 500724

Allmän information

Description

Cellinjen NRK-EGFP-H2B är en genetiskt modifierad variant av NRK-celler (Normal Rat Kidney) som stabilt uttrycker EGFP (Enhanced Green Fluorescent Protein) fusionerat med histon H2B. Denna modifiering möjliggör visualisering i realtid av kromatin och kärndynamik, vilket gör denna cellinje till ett ovärderligt verktyg för att studera cellcykelprogression, mitos och kromatinorganisation. Det stabila uttrycket av EGFP-H2B ger en ljus och konsekvent fluorescerande signal, vilket underlättar högupplöst avbildning av levande celler och gör det möjligt för forskare att övervaka nukleära händelser med stor precision.

NRK-celler, som härstammar från njurvävnaden hos en vuxen råtta, används ofta inom cellbiologi på grund av sina robusta tillväxtegenskaper och väldokumenterade fysiologiska beteenden. Införandet av fusionsproteinet EGFP-H2B i dessa celler förändrar inte nämnvärt deras tillväxt eller morfologi, vilket möjliggör tillförlitliga och reproducerbara experimentella förhållanden. Denna cellinje är särskilt användbar i studier av njurcellsbiologi, cellulära reaktioner på stress och mekanismer för cancerframkallande, med tanke på njurarnas roll när det gäller att filtrera blod och utsöndra avfall. Dessutom kan fluorescensförmågan hos NRK-EGFP-H2B-celler utnyttjas vid läkemedelsscreening för att observera läkemedelseffekter på cellproliferation och nukleär morfologi i realtid.

Organism Råtta

Tissue Njurar

Synonyms NRK EGFP-H2B

Egenskaper

Breed/Subspecies OsborneMendel

Morphology Fibroblastliknande celler med fusiform form

Growth properties Monolager, vidhäftande

Lagstadgade uppgifter

Citation NRK-EGFP-H2B (Cytion katalognummer 500724)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10116

CellosaurusAccession CVCL_AV92

NRK-EGFP-H2B-celler | 500724

Depositor Ellenberg-laboratoriet (EMBL)

Biomolekylära data

Receptors expressed Epidermal tillväxtfaktor (EGF), multiplikationsstimulerande aktivitet (MSA)

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

Products Epidermal tillväxtfaktor (EGF), multiplikationsstimulerande aktivitet (MSA), CMV Promotor Histone H2B, Neomycin, Fosfotransferas

Hantering

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L glukos, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)

Supplements Komplettera mediet med 10% FBS, 0,5 mg/ml G418

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Kassera det gamla mediet och tvätta cellerna med PBS. Tillsätt en nyberedd 0,025% trypsin/0,02% EDTA-lösning som värmts upp till 37 grader Celsius och vänta tills cellerna lossnar, vilket vanligtvis tar cirka 5 minuter. Neutralisera trypsinet genom att tillsätta färskt medium, överför sedan cellblandningen till ett rör och centrifugera. Efter centrifugeringen avlägsnas supernatanten, cellpelleten resuspenderas i färskt odlingsmedium och suspensionen överförs till nya kolvar. Tillsätt G418 i odlingsmediet för att uppnå en slutlig koncentration på 0,5 mg/ml

Split ratio Ett förhållande på 1:3 till 1:4 rekommenderas

Seeding density 2 till 4×10^4 celler/cm²

Fluid renewal 2 till 3 gånger per vecka

Freeze medium Som kryokonservationsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

NRK-EGFP-H2B-celler | 500724

Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfryst vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeshuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid $300 \times g$ i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkanter; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befuktad atmosfär.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

Shipping Conditions

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

NRK-EGFP-H2B-celler | 500724

Storage Conditions

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik.

För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.