Product sheet

Celice NRK-EGFP-H2B | 500724

Splošne informacije

Description	Celična linija NRK-EGFP-H2B je genetsko spremenjena različica normalnih ledvičnih celic podgane (NRK), ki stabilno izražajo izboljšan zeleni fluorescenčni protein (EGFP), združen s histonom H2B. Ta modifikacija omogoča vizualizacijo kromatina in jedrne dinamike v realnem času, zato je ta celična linija neprecenljivo orodje za preučevanje napredovanja celičnega cikla, mitoze in organizacije kromatina. Stabilno izražanje EGFP-H2B zagotavlja svetel in konsistenten fluorescenčni signal, kar omogoča slikanje celic v živo z visoko ločljivostjo in raziskovalcem omogoča zelo natančno spremljanje jedrskih dogodkov. Celice NRK, ki izvirajo iz ledvičnega tkiva odrasle podgane, se pogosto uporabljajo v celični biologiji zaradi svojih robustnih značilnosti rasti in dobro dokumentiranega fiziološkega obnašanja. Vnos fuzijskega proteina EGFP-H2B v te celice bistveno ne spremeni njihove rasti ali morfologije, kar omogoča zanesljive in ponovljive eksperimentalne pogoje. Ta celična linija je zaradi vloge ledvic pri filtriranju krvi in izločanju odpadkov še posebej uporabna pri študijah biologije ledvičnih celic, celičnih odzivov na stres in mehanizmov kancerogeneze. Poleg tega se lahko fluorescenčne sposobnosti celic NRK-EGFP-H2B izkoristijo v aplikacijah za presejanje zdravil za opazovanje učinkov zdravil na proliferacijo celic in jedrno morfologijo v realnem času.
Organism	Podgana
Tissue	Ledvice
Synonyms	NRK EGFP-H2B

Značilnosti

Breed/Subspecies	OsborneMendel
Morphology	Fibroblastom podobne celice s fusiformno obliko
Growth properties	Enoslojni, adherentni

Regulativni podatki

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

Celice NRK-EGFP-H2B | 500724

Depositor	Laboratorij Ellenberg (EMBL)

Biomolekularni podatki

Receptors expressed	Epidermalni rastni dejavnik (EGF), aktivnost, ki spodbuja razmnoževanje (MSA)
Protein expression	EGFP-H2B: Lokacija/gen: 1..589 / Pcmv, 613..1329 / EGFP, 1387..1764 / H2B, 3001..3795 / KanR/NeoR
Products	Epidermalni rastni dejavnik (EGF), aktivnost, ki spodbuja razmnoževanje (MSA), CMV Promotor Histon H2B, neomicin, fosfotransferaza

Ravnanje s spletno stranjo

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glukoze, w: 4 mM L-glutamina, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM natrijevega piruvata (številka izdelka Cytion 820300a)
Supplements	Gojišču dodajte 10 % FBS, 0,5 mg/ml G418
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Zavrzite staro gojišče in celice sperite s PBS. Dodajte sveže pripravljeno 0,025 % raztopino tripsina/0,02 % EDTA, segreto na 37 stopinj Celzija, in počakajte, da se celice ločijo, kar običajno traja približno 5 minut. Tripsin nevtralizirajte z dodajanjem svežega gojišča, nato celično mešanico prenesite v epruveto in centrifugirajte. Po centrifugiranju odstranite supernatant, ponovno suspendirajte celično peleto v svežem gojišču in suspenzijo prenesite v nove bučke. G418 dodajte v gojišče, da dosežete končno koncentracijo 0,5 mg/ml
Split ratio	Priporoča se razmerje od 1:3 do 1:4
Seeding density	2 do 4 x 10^4 celic/cm^2
Fluid renewal	2 do 3-krat na teden
Freeze medium	Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročenega s kriom.

Celice NRK-EGFP-H2B | 500724

Thawing and Culturing Cells	1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature. 2. Po prejemu kriovial takoj shranite pri temperaturi pod -150 °C, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje. 3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri 37 °C ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica. 4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom. 5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte. 6. Mešanico centrifugirajte pri 300 x g 3 minute, da ločite celice, in previdno zavrzite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča. 7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic. 8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.
Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, vlažno ozračje.
Flask Coating	Nič
Freezing Procedure	Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78 °C. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in viale nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.
Shipping Conditions	Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78 °C. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in viale nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Storage Conditions	Za dolgotrajno shranjevanje viale postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Kontrola kakovosti in molekularna analiza

Sterility	Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence. Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.