

Клітини NRK-EGFP-H2B | 500724

Загальна інформація

Description

Клітинна лінія NRK-EGFP-H2B - це генетично модифікований варіант клітин нормальної нирки щура (NRK), які стабільно експресують посилений зелений флуоресцентний білок (EGFP), злитий з гістоном H2B. Ця модифікація дозволяє візуалізувати хроматин і ядерну динаміку в режимі реального часу, що робить цю клітинну лінію безцінним інструментом для вивчення прогресії клітинного циклу, мітозу та організації хроматину. Стабільна експресія EGFP-H2B забезпечує яскравий і стабільний флуоресцентний сигнал, що полегшує візуалізацію живих клітин з високою роздільною здатністю і дозволяє дослідникам з високою точністю відстежувати ядерні події.

Клітини NRK, отримані з тканини нирки дорослого щура, широко використовуються в клітинній біології завдяки їхнім сильним ростовим характеристикам і добре задокументованій фізіологічній поведінці. Введення злитого білка EGFP-H2B в ці клітини не спричиняє суттєвих змін у їхньому рості та морфології, що дозволяє створювати надійні та відтворювані експериментальні умови. Ця клітинна лінія є особливо корисною для вивчення біології клітин нирок, клітинних реакцій на стрес та механізмів канцерогенезу, враховуючи роль нирок у фільтрації крові та виведенні відходів життєдіяльності. Крім того, флуоресцентні властивості клітин NRK-EGFP-H2B можуть бути використані для скринінгу лікарських препаратів, щоб спостерігати вплив ліків на проліферацію клітин та ядерну морфологію в режимі реального часу.

Organism Щур

Tissue Нирка

Synonyms NRK EGFP-H2B

Характеристики

Breed/Subspecies Осборн-Мендель

Morphology Фібробластоподібні клітини веретеноподібної форми

Growth properties Одношаровий, адгезійний

Нормативні дані

Citation NRK-EGFP-H2B (номер за каталогом Cytion 500724)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10116

Клітини NRK-EGFP-H2B | 500724

CellosaurusAccession CVCL_AV92**Depositor** Лабораторія Елленберга (EMBL)

Біомолекулярні дані

Receptors expressed Епідермальний фактор росту (EGF), активність, що стимулює розмноження (MSA)**Protein expression** EGFP-H2B: Розташування/ген: 1..589 / Pcmv, 613.1329 / EGFP, 1387.1764 / H2B, 3001.3795 / KanR/NeoR**Products** Епідермальний фактор росту (EGF), активність, що стимулює розмноження (MSA), промоторний гістон CMV H2B, неоміцин, фосфотрансфераза

Обробка

Culture Medium ДМЕМ, w: 4,5 г/л Глюкоза, w: 4 мМ L-глутамін, w: 3,7 г/л NaHCO₃, w: 1,0 мМ піруват натрію (цит. номер 820300a)**Supplements** Додайте до середовища 10% FBS, 0,5 мг/мл G418**Dissociation Reagent** Аккутаза**Subculturing** Викиньте старе середовище і промийте клітини PBS. Додайте свіжоприготований 0,025% розчин трипсину/0,02% розчин ЕДТА, нагрітий до 37 градусів Цельсія, і зачекайте, поки клітини відокремляться, що зазвичай займає близько 5 хвилин. Нейтралізуйте трипсин, додавши свіже середовище, потім перенесіть клітинну суміш у пробірку і центрифугуйте. Після центрифугування видаліть надосадову рідину, ресуспендуйте осад клітин у свіжому живильному середовищі та перенесіть суспензію в нові колби. Додайте G418 в культуральне середовище для досягнення кінцевої концентрації 0,5 мг/мл**Split ratio** Рекомендується співвідношення від 1:3 до 1:4**Seeding density** Від 2 до 4 x 10⁴ клітин / см²**Fluid renewal** 2-3 рази на тиждень**Freeze medium** Як середовище криоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

Клітини NRK-EGFP-H2B | 500724**Thawing and
Culturing Cells**

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче -150°C , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануливши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при $300 \times g$ протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтеся встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , волога атмосфера.

Flask Coating

Ні

**Freezing
Procedure**

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78°C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Клітини NRK-EGFP-H2B | 500724

Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірених ізольованих упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Storage Conditions

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості / Генетичний профіль / HLA

Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.