Product sheet

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
Seeding density	Від 2 до 4 x 10^4 клітин/см2
Fluid renewal	2-3 рази на тиждень
Freeze medium	Як середовище кріоконсервування 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, зануривши 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 x 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. Дотримуйтесь встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% $_{CO2}$, волога атмосфера.

Flask Coating

Для оптимального прикріплення та життєздатності після розморожування ми рекомендуємо використовувати **колби або пластини з колагеновим покриттям**.

Freezing Procedure

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній 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 перевіреній 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.
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, грибкового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.