

NRK-EGFP-H2B-Zellen | 500724

Allgemeine Informationen

Description	Diese klonale stabile Zelllinie wurde durch Transfektion eines zirkulären Plasmids und anschließende Selektion auf Arzneimittelresistenz erzeugt. G418 wird dem Kulturmedium in einer Endkonzentration von 0,5 mg/ml zugesetzt.
Organism	Ratte
Tissue	Niere
Synonyms	NRK EGFP-H2B

Merkmale

Morphology	Fibroblastenähnliche Zellen mit fusiformer Form
Growth properties	Monolayer, anhaftend

Identifikatoren / Biologische Schutzstufe / Zitation

Citation	NRK-EGFP-H2B (Cytion-Katalognummer 500724)
Biosafety level	1
Depositor	Dr. J. Ellenberg, EMBL Heidelberg

Expression / Mutation

Receptors expressed	Epidermaler Wachstumsfaktor (EGF), Multiplikationsstimulierende Aktivität (MSA)
Protein expression	EGFP-H2B: Standort/Gen: 1..589 / Pcmv, 613..1329 / EGFP, 1387..1764 / H2B, 3001..3795 / KanR/NeoR
Products	Epidermaler Wachstumsfaktor (EGF), Multiplikationsstimulierende Aktivität (MSA), CMV-Promotor Histon H2B, Neomycin, Phosphotransferase

Handhabung

NRK-EGFP-H2B-Zellen | 500724

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L Glucose, w: 4 mM L-Glutamin, w: 1,5 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM Natriumpyruvat (Cytion-Artikelnummer 820300a)

Medium supplements Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS, 0,5 mg/ml G418

Passaging solution Accutase

Subculturing Verwerfen Sie das alte Medium und waschen Sie die Zellen mit PBS. Geben Sie eine frisch zubereitete, auf 37 Grad Celsius erhitzte 0,025%ige Trypsin/0,02%ige EDTA-Lösung hinzu und warten Sie, bis sich die Zellen ablösen, was in der Regel etwa 5 Minuten dauert. Neutralisieren Sie das Trypsin durch Zugabe von frischem Medium, überführen Sie das Zellgemisch in ein Röhrchen und zentrifugieren Sie es. Nach der Zentrifugation den Überstand abnehmen, das Zellpellet in frischem Kulturmedium resuspendieren und die Suspension in neue Kolben überführen. G418 in das Kulturmedium einbringen, um eine Endkonzentration von 0,5 mg/ml zu erreichen

Split ratio Empfohlen wird ein Verhältnis von 1:3 bis 1:4

Seeding density 2 bis 4 x 10⁴ Zellen/cm²

Fluid renewal 2 bis 3 Mal pro Woche

Freeze medium CM-1 (Cytion Katalognummer 800100) oder CM-ACF (Cytion Katalognummer 806100)

NRK-EGFP-H2B-Zellen | 500724

Handling of cryopreserved cultures

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryovial nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für die sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryovial vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie die Mischung 3 Minuten lang bei $300 \times g$, um die Zellen abzutrennen, und werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig. Optional kann die Zentrifugation übersprungen und das restliche Einfriermedium nach 24 Stunden entfernt werden.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhärenenten Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

Qualitätskontrolle / Genetisches Profil / HLA

Sterility

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.

Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.