

NRK-EGFP-H2B-cellen | 500724

Algemene informatie

Description

De NRK-EGFP-H2B cellijn is een genetisch gemodificeerde variant van normale rattenniercellen (NRK) die stabiel het enhanced green fluorescent protein (EGFP), samengesmolten met histon H2B, tot expressie brengt. Deze modificatie maakt real-time visualisatie van chromatine en nucleaire dynamiek mogelijk, waardoor deze cellijn van onschatbare waarde is voor het bestuderen van celcyclusprogressie, mitose en chromatineorganisatie. De stabiele expressie van EGFP-H2B zorgt voor een helder en consistent fluorescerend signaal, waardoor live-cel beeldvorming met hoge resolutie mogelijk wordt en onderzoekers de nucleaire gebeurtenissen met grote precisie kunnen volgen.

NRK-cellen, afkomstig uit het nierweefsel van een volwassen rat, worden veel gebruikt in de celbiologie vanwege hun robuuste groeikarakteristieken en goed gedocumenteerde fysiologische gedrag. De introductie van het fusie-eiwit EGFP-H2B in deze cellen verandert hun groei of morfologie niet significant, waardoor betrouwbare en reproduceerbare experimentele omstandigheden mogelijk zijn. Deze cellijn is vooral nuttig bij studies naar de biologie van niercellen, reacties van cellen op stress en mechanismen van carcinogenese, gezien de rol van de nier bij het filteren van bloed en het uitscheiden van afvalstoffen. Daarnaast kunnen de fluorescentiemogelijkheden van NRK-EGFP-H2B cellen worden gebruikt voor het screenen van medicijnen om de effecten van medicijnen op celproliferatie en kernmorfologie in real-time te observeren.

Organism

Rat

Tissue

Nieren

Synonyms

NRK EGFP-H2B

Kenmerken

Breed/Subspecies

OsborneMendel

Morphology

Fibroblast-achtige cellen met spoelvormige vorm

Growth properties

Monolaag, adherent

Regelgevende gegevens

Citation

NRK-EGFP-H2B (Cytion catalogusnummer 500724)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

10116

NRK-EGFP-H2B-cellen | 500724

CellosaurusAccession CVCL_AV92**Depositor** Het Ellenberg Lab (EMBL)

Biomoleculaire gegevens

Receptors expressed Epidermale groeifactor (EGF), vermeerderingsstimulerende activiteit (MSA)**Protein expression** EGFP-H2B: Locatie/gen: 1..589 / Pcmv, 613..1329 / EGFP, 1387..1764 / H2B, 3001..3795 / KanR/NeoR**Products** Epidermale groeifactor (EGF), Vermenigvuldigingsstimulerende activiteit (MSA), CMV Promotor Histon H2B, Neomycine, Fosfotransferase

Omgaan met

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L Glucose, w: 4 mM L-Glutamine, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM Natriumpyruvaat (Cytion artikelnummer 820300a)**Supplements** Vul het medium aan met 10% FBS, 0,5 mg/mL G418**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Gooi het oude medium weg en was de cellen met PBS. Voeg een vers bereide 0,025% trypsine/0,02% EDTA-oplossing verwarmd tot 37 graden Celsius toe en wacht tot de cellen loskomen, wat meestal ongeveer 5 minuten duurt. Neutraliseer de trypsine door vers medium toe te voegen, breng het celmengsel over naar een buis en centrifugeer. Verwijder na het centrifugeren het supernatant, resuspendeer de celpellet in vers kweekmedium en breng de suspensie over naar nieuwe kolven. Voeg G418 toe aan het kweekmedium om een eindconcentratie van 0,5 mg/ml te bereiken**Split ratio** Een verhouding van 1:3 tot 1:4 wordt aanbevolen**Seeding density** 2 tot 4 x 10⁴ cellen/cm²**Fluid renewal** 2 tot 3 keer per week**Freeze medium** Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedum (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

NRK-EGFP-H2B-cellen | 500724

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan -150 °C om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van 37 °C met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij 300 x g om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Geen

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

NRK-EGFP-H2B-cellen | 500724

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole en moleculaire analyse

Sterility

Mycoplasmaverontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasmadetectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.