

**Buňky NRK-EGFP-H2B | 500724****Obecné informace****Description**

Buněčná linie NRK-EGFP-H2B je geneticky modifikovaná varianta buněk normální ledviny potkana (NRK), která stabilně exprimuje zesílený zelený fluorescenční protein (EGFP) spojený s histonem H2B. Tato modifikace umožňuje vizualizaci chromatinu a jaderné dynamiky v reálném čase, což z této buněčné linie činí neocenitelný nástroj pro studium průběhu buněčného cyklu, mitózy a organizace chromatinu. Stabilní exprese EGFP-H2B poskytuje jasný a konzistentní fluorescenční signál, což usnadňuje zobrazování živých buněk s vysokým rozlišením a umožňuje výzkumníkům sledovat jaderné děje s velkou přesností.

Buňky NRK, pocházející z ledvinové tkáně dospělého potkana, jsou díky svým robustním růstovým vlastnostem a dobře zdokumentovanému fyziologickému chování široce využívány v buněčné biologii. Zavedení fúzního proteinu EGFP-H2B do těchto buněk výrazně nemění jejich růst ani morfologii, což umožňuje spolehlivé a reprodukovatelné experimentální podmínky. Vzhledem k úloze ledvin při filtraci krve a vylučování odpadních látek je tato buněčná linie zvláště užitečná při studiu biologie ledvinových buněk, buněčných reakcí na stres a mechanismů karcinogeneze. Kromě toho lze fluorescenční schopnosti buněk NRK-EGFP-H2B využít při screeningu léčiv a sledovat účinky léčiv na buněčnou proliferaci a jadernou morfologii v reálném čase.

**Organism**

Krysy

**Tissue**

Ledviny

**Synonyms**

NRK EGFP-H2B

**Charakteristika****Breed/Subspecies**

OsborneMendel

**Morphology**

Fibroblastům podobné buňky s fusiformním tvarem

**Growth properties**

Monovrstva, adherentní

**Regulační údaje****Citation**

NRK-EGFP-H2B (katalogové číslo Cytion 500724)

**Biosafety level**

1

**NCBI\_TaxID**

10116

**CellosaurusAccession**

CVCL\_AV92

**Buňky NRK-EGFP-H2B | 500724****Depositor** Ellenbergova laboratoř (EMBL)**Biomolekulární data****Receptors expressed** Epidermální růstový faktor (EGF), multiplikační stimulační aktivita (MSA)**Protein expression** EGFP-H2B: Umístění/geny: 1..589 / Pcmv, 613..1329 / EGFP, 1387..1764 / H2B, 3001..3795 / KanR/NeoR**Products** Epidermální růstový faktor (EGF), aktivita stimulující množení (MSA), CMV Promotor Histon H2B, neomycin, fosfotransferáza**Zpracování****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutaminu, w: 3,7 g/l NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)**Supplements** Doplněte médium 10% FBS, 0,5 mg/ml G418**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Staré médium zlikvidujte a buňky promyjte PBS. Přidejte čerstvě připravený 0,025% roztok trypsinu/0,02% EDTA zahřátý na 37 °C a počkejte, dokud se buňky neoddelí, což obvykle trvá asi 5 minut. Neutralizujte trypsin přidáním čerstvého média, poté přeneste směs buněk do zkumavky a odstředte. Po odstředění odeberte supernatant, resuspendujte buněčnou peletu v čerstvém kultivačním médiu a suspenzi přeneste do nových baněk. Přidejte G418 do kultivačního média, abyste dosáhli konečné koncentrace 0,5 mg/ml**Split ratio** Doporučuje se poměr 1:3 až 1:4**Seeding density** 2 až 4 x 10<sup>4</sup> buněk/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal** 2 až 3krát týdně**Freeze medium** Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

## Buňky NRK-EGFP-H2B | 500724

### Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmražená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstřeďte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

### Incubation Atmosphere

37 °C, 5 %  $\text{CO}_2$ , zvlhčená atmosféra.

### Flask Coating

Žádný

### Freezing Procedure

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

### Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

## Buňky NRK-EGFP-H2B | 500724

### Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

## Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

### Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.