

## NRK-EGFP-H2B-celler | 500724

## Generell informasjon

## Description

NRK-EGFP-H2B-cellelinjen er en genetisk modifisert variant av normale rottenyreceller (NRK-celler) som stabilt uttrykker det forsterkede grønne fluorescerende proteinet (EGFP) som er fusjonert med histon H2B. Denne modifikasjonen muliggjør sanntidsvisualisering av kromatin og kjernedynamikk, noe som gjør denne cellelinjen til et uvurderlig verktøy for studier av cellesyklusprogresjon, mitose og kromatinorganisering. Det stabile uttrykket av EGFP-H2B gir et sterkt og konsistent fluorescerende signal, noe som muliggjør høyoppløselig avbildning av levende celler og gjør det mulig for forskere å overvåke nukleære hendelser med stor presisjon.

NRK-celler, som stammer fra nyrevev fra voksne rotter, er mye brukt i cellebiologi på grunn av deres robuste vekstegenskaper og veldokumenterte fysiologiske atferd. Introduksjonen av EGFP-H2B-fusjonsprotein i disse cellene endrer ikke veksten eller morfologien deres i vesentlig grad, noe som gir pålitelige og reproduerbare eksperimentelle betingelser. Denne cellelinjen er spesielt nyttig i studier av nyrecellenes biologi, cellulære responser på stress og mekanismer for karsinogenese, på grunn av nyrenes rolle i blodfiltrering og utskillelse av avfallsstoffer. I tillegg kan NRK-EGFP-H2B-cellenes fluorescensegenskaper utnyttes i screening av legemidler for å observere effekten av legemidler på celleproliferasjon og kjernemorfologi i sanntid.

**Organism** Rotte

**Tissue** Nyre

**Synonyms** NRK EGFP-H2B

## Kjennetegn

**Breed/Subspecies** OsborneMendel

**Morphology** Fibroblastlignende celler med fusiform form

**Growth properties** Monolag, vedheftende

## Regulatoriske data

**Citation** NRK-EGFP-H2B (Cytion katalognummer 500724)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 10116

**CellosaurusAccession** CVCL\_AV92

## NRK-EGFP-H2B-celler | 500724

**Depositor** Ellenberg-laboratoriet (EMBL)

**Biomolekylære data**

**Receptors expressed** Epidermal vekstfaktor (EGF), multiplikasjonsstimulerende aktivitet (MSA)

**Protein expression** EGFP-H2B: Beliggenhet/Gen: 1..589 / Pcmv, 613..1329 / EGFP, 1387..1764 / H2B, 3001..3795 / KanR/NeoR

**Products** Epidermal vekstfaktor (EGF), multiplikasjonsstimulerende aktivitet (MSA), CMV-promotor Histon H2B, neomycin, fosfotransferase

**Håndtering**

**Culture Medium** DMEM, m: 4,5 g/L glukose, m: 4 mM L-glutamin, m: 3,7 g/L NaHCO<sub>3</sub>, m: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikkelnummer 820300a)

**Supplements** Suppler mediet med 10 % FBS, 0,5 mg/mL G418

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Kast det gamle mediet, og vask cellene med PBS. Tilsett en nytilberedt 0,025 % trypsin/0,02 % EDTA-løsning oppvarmet til 37 grader Celsius, og vent til cellene løsner, noe som vanligvis tar ca. 5 minutter. Nøytraliser trypsinet ved å tilsette nytt medium, og overfør deretter celleblandingen til et rør og sentrifuger. Etter sentrifugering fjerner du supernatanten, resuspenderer cellepelletten i nytt dyrkingsmedium og overfører suspensjonen til nye kolber. Tilsett G418 i dyrkingsmediet for å oppnå en sluttkonsentrasjon på 0,5 mg/ml

**Split ratio** Et forhold på 1:3 til 1:4 anbefales

**Seeding density** 2 til 4 x 10<sup>4</sup> celler/cm<sup>2</sup>

**Fluid renewal** 2 til 3 ganger per uke

**Freeze medium** Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter optiming, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoundusert stress.

## NRK-EGFP-H2B-celler | 500724

### Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved  $300 \times g$  i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , befuktet atmosfære.

### Flask Coating

Ingen

### Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca.  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

### Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca.  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

## NRK-EGFP-H2B-celler | 500724

### Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

## Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

### Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.