

**Komórki NRK-EGFP-H2B | 500724****Informacje ogólne****Description**

Linia komórkowa NRK-EGFP-H2B jest genetycznie zmodyfikowanym wariantem normalnych szczurzych komórek nerkowych (NRK), które stabilnie wyrażają wzmocnione zielone białko fluorescencyjne (EGFP) połączone z histonem H2B. Modyfikacja ta pozwala na wizualizację chromatyny i dynamiki jądrowej w czasie rzeczywistym, czyniąc tę linię komórkową nieocenionym narzędziem do badania progresji cyklu komórkowego, mitozy i organizacji chromatyny. Stabilna ekspresja EGFP-H2B zapewnia jasny i spójny sygnał fluorescencyjny, ułatwiając obrazowanie żywych komórek w wysokiej rozdzielczości i umożliwiając naukowcom monitorowanie zdarzeń jądrowych z dużą precyzją.

Komórki NRK, pochodzące z tkanki nerkowej dorosłego szczura, są szeroko stosowane w biologii komórkowej ze względu na ich silne właściwości wzrostu i dobrze udokumentowane zachowania fizjologiczne. Wprowadzenie białka fuzyjnego EGFP-H2B do tych komórek nie zmienia znacząco ich wzrostu ani morfologii, pozwalając na wiarygodne i powtarzalne warunki eksperymentalne. Ta linia komórkowa jest szczególnie przydatna w badaniach biologii komórek nerkowych, odpowiedzi komórkowych na stres i mechanizmów kancerogenezy, biorąc pod uwagę rolę nerek w filtrowaniu krwi i wydalaniu odpadów. Dodatkowo, zdolność komórek NRK-EGFP-H2B do fluorescencji może być wykorzystana w badaniach przesiewowych leków w celu obserwacji wpływu leków na proliferację komórek i morfologię jądrową w czasie rzeczywistym.

**Organism**      Szczur**Tissue**      Nerka**Synonyms**      NRK EGFP-H2B**Charakterystyka****Breed/Subspecies**      OsborneMendel**Morphology**      Komórki podobne do fibroblastów o wrzecionowatym kształcie**Growth properties**      Monowarstwa, przylegająca**Dane regulacyjne****Citation**      NRK-EGFP-H2B (numer katalogowy Cytion 500724)**Biosafety level**      1**NCBI\_TaxID**      10116

**Komórki NRK-EGFP-H2B | 500724****CellosaurusAccession** CVCL\_AV92**Depositor** Laboratorium Ellenberg (EMBL)**Dane biomolekularne****Receptors expressed** Epidermalny czynnik wzrostu (EGF), aktywność stymulująca namnażanie (MSA)**Protein expression** EGFP-H2B: Lokalizacja/gen: 1..589 / Pcmv, 613..1329 / EGFP, 1387..1764 / H2B, 3001..3795 / KanR/NeoR**Products** Naskórkowy czynnik wzrostu (EGF), aktywność stymulująca namnażanie (MSA), promotor CMV Histon H2B, neomycyna, fosfotransferaza**Obsługa****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukozy, w: 4 mM L-glutaminy, w: 3,7 g/l NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM pirogronianu sodu (numer artykułu Cytion 820300a)**Supplements** Uzupełnić podłoże 10% FBS, 0,5 mg/ml G418**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Wyrzucić starą pożywkę i przepłukać komórki PBS. Dodaj świeżo przygotowany 0,025% roztwór trypsyny/0,02% EDTA podgrzany do 37 stopni Celsjusza i poczekaj, aż komórki się odłączą, co zwykle zajmuje około 5 minut. Zneutralizować trypsynę przez dodanie świeżej pożywki, a następnie przenieść mieszaninę komórek do probówki i odwirować. Po odwirowaniu usunąć supernatant, ponownie zawiesić osad komórkowy w świeżej pożywce i przenieść zawiesinę do nowych kolb. Dodać G418 do podłoża hodowlanego, aby osiągnąć końcowe stężenie 0,5 mg/ml**Split ratio** Zalecany jest stosunek 1:3 do 1:4**Seeding density** 2 do 4 x 10<sup>4</sup> komórek/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal** 2 do 3 razy w tygodniu**Freeze medium** Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

**Komórki NRK-EGFP-H2B | 500724****Thawing and  
Culturing Cells**

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej  $-150^{\circ}\text{C}$ , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze  $37^{\circ}\text{C}$  z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością  $300 \times g$  przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

**Incubation  
Atmosphere**

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , nawilżona atmosfera.

**Flask Coating**

Brak

**Freezing  
Procedure**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około  $-78^{\circ}\text{C}$  przez czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

## Komórki NRK-EGFP-H2B | 500724

### Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około  $-78^{\circ}\text{C}$  przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

### Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od  $-150$  do  $-196^{\circ}\text{C}$ . Przechowywanie w temperaturze  $-80^{\circ}\text{C}$  jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

## Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

### Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.