

**Bunky NRK-EGFP-H2B | 500724****Všeobecné informácie****Description**

Bunková línia NRK-EGFP-H2B je geneticky modifikovaný variant normálnych potkaních obličkových buniek (NRK), ktoré stabilne exprimujú zvýšený zelený fluorescenčný proteín (EGFP) spojený s histónom H2B. Táto modifikácia umožňuje vizualizáciu chromatinu a jadrovej dynamiky v reálnom čase, vďaka čomu je táto bunková línia neoceniteľným nástrojom na štúdium progresie bunkového cyklu, mitózy a organizácie chromatinu. Stabilná expresia EGFP-H2B poskytuje jasný a konzistentný fluorescenčný signál, čo uľahčuje zobrazovanie živých buniek s vysokým rozlíšením a umožňuje výskumníkom veľmi presne sledovať jadrové udalosti.

Bunky NRK, ktoré pochádzajú z obličkového tkaniva dospelého potkana, sa široko používajú v bunkovej biológii vďaka svojim robustným rastovým vlastnostiam a dobre zdokumentovanému fyziologickému správaniu. Zavedenie fúzneho proteínu EGFP-H2B do týchto buniek výrazne nemení ich rast ani morfológiu, čo umožňuje spoľahlivé a reprodukovateľné experimentálne podmienky. Táto bunková línia je obzvlášť užitočná pri štúdiu biológie obličkových buniek, bunkových reakcií na stres a mechanizmov karcinogenézy vzhľadom na úlohu obličiek pri filtrovaní krvi a vylučovaní odpadu. Okrem toho sa fluorescenčné schopnosti buniek NRK-EGFP-H2B dajú využiť pri skríningu liečiv na pozorovanie účinkov liečiv na proliferáciu buniek a jadrovú morfológiu v reálnom čase.

**Organism** Krasy**Tissue** Obličky**Synonyms** NRK EGFP-H2B**Charakteristika****Breed/Subspecies** OsborneMendel**Morphology** Fibroblastom podobné bunky s fusiformným tvarom**Growth properties** Monovrstva, priliehajúca**Regulačné údaje****Citation** NRK-EGFP-H2B (katalógové číslo Cytion 500724)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 10116**CellosaurusAccession** CVCL\_AV92

**Bunky NRK-EGFP-H2B | 500724****Depositor** Ellenbergova laboratória (EMBL)**Biomolekulárne údaje****Receptors expressed** Epidermálny rastový faktor (EGF), aktivita stimulujúca množenie (MSA)**Protein expression** EGFP-H2B: Umiestnenie/gén: 1..589 / Pcmv, 613..1329 / EGFP, 1387..1764 / H2B, 3001..3795 / KanR/NeoR**Products** Epidermálny rastový faktor (EGF), aktivita stimulujúca množenie (MSA), CMV Promotor Histón H2B, neomycín, fosfotransferáza**Spracovanie****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutamínu, w: 3,7 g/l NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)**Supplements** Doplníte médium o 10 % FBS, 0,5 mg/ml G418**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Staré médium zlikvidujte a bunky premyte PBS. Pridajte čerstvo pripravený 0,025 % roztok trypsínu/0,02 % EDTA zahriaty na 37 °C a počkajte, kým sa bunky neoddelia, čo zvyčajne trvá asi 5 minút. Neutralizujte trypsín pridaním čerstvého média, potom zmes buniek preneste do skúmavky a odstredte. Po odstredení odstráňte supernatant, resuspendujte bunkovú peletu v čerstvom kultivačnom médiu a suspenziou prelejte do nových fliaš. Do kultivačného média pridajte G418, aby ste dosiahli konečnú koncentráciu 0,5 mg/ml**Split ratio** Odporúča sa pomer 1:3 až 1:4**Seeding density** 2 až 4 x 10<sup>4</sup> buniek/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal** 2 až 3-krát týždenne**Freeze medium** Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

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

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

**Incubation  
Atmosphere**

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

**Flask Coating**

Žiadne

**Freezing  
Procedure**

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

**Shipping  
Conditions**

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

## Bunky NRK-EGFP-H2B | 500724

### Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

## Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

### Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.