

## NRK-EGFP-H2B Hücreleri | 500724

## Genel bilgi

## Description

NRK-EGFP-H2B hücre hattı, histon H2B'ye kaynaşmış gelişmiş yeşil floresan proteini (EGFP) kararlı bir şekilde ifade eden normal sıçan böbrek (NRK) hücrelerinin genetik olarak değiştirilmiş bir çeşididir. Bu modifikasyon, kromatin ve nükleer dinamiklerin gerçek zamanlı görselleştirilmesine olanak tanıyarak bu hücre hattını hücre döngüsü ilerlemesi, mitoz ve kromatin organizasyonunu incelemek için paha biçilmez bir araç haline getirir. EGFP-H2B'nin kararlı ifadesi parlak ve tutarlı bir floresan sinyali sağlayarak yüksek çözünürlüklü canlı hücre görüntülemeyi kolaylaştırır ve araştırmacıların nükleer olayları büyük bir hassasiyetle izlemelerine olanak tanır.

Yetişkin bir sıçanın böbrek dokusundan köken alan NRK hücreleri, sağlam büyüme özellikleri ve iyi belgelenmiş fizyolojik davranışları nedeniyle hücre biyolojide yaygın olarak kullanılmaktadır. EGFP-H2B füzyon proteininin bu hücrelere eklenmesi, büyümelerini veya morfolojilerini önemli ölçüde değiştirmez, güvenilir ve tekrarlanabilir deneysel koşullara izin verir. Bu hücre hattı, böbreğin kanı filtreleme ve atıkları dışarı atma rolü göz önüne alındığında, böbrek hücre biyolojisi, strese karşı hücre tepkileri ve karsinogenez mekanizmaları çalışmalarında özellikle yararlıdır. Ayrıca, NRK-EGFP-H2B hücrelerinin floresan özellikleri, hücre çoğalması ve nükleer morfoloji üzerindeki ilaç etkilerini gerçek zamanlı olarak gözlemlemek için ilaç tarama uygulamalarında kullanılabilir.

**Organism** Sıçan

**Tissue** Böbrek

**Synonyms** NRK EGFP-H2B

## Özellikler

**Breed/Subspecies** OsborneMendel

**Morphology** Fusiform şekilli fibroblast benzeri hücreler

**Growth properties** Tek katmanlı, yapışık

## Düzenleyici Veriler

**Citation** NRK-EGFP-H2B (Cytion katalog numarası 500724)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 10116

**CellosaurusAccession** CVCL\_AV92

## NRK-EGFP-H2B Hücreleri | 500724

**Depositor** Ellenberg Laboratuvarı (EMBL)

**Biyomoleküler Veriler**

**Receptors expressed** Epidermal büyüme faktörü (EGF), çoğalmayı uyarıcı aktivite (MSA)

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

**Products** Epidermal büyüme faktörü (EGF), çoğalmayı uyarıcı aktivite (MSA), CMV Promotor Histon H2B, Neomisin, Fosfotransferaz

**Elleçleme**

**Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L Glukoz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM Sodyum piruvat (Cytion ürün numarası 820300a)

**Supplements** Ortamı %10 FBS, 0,5 mg/mL G418 ile takviye edin

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Eski ortamı atın ve hücreleri PBS ile yıkayın. Taze hazırlanmış %0,025 tripsin/%0,02 EDTA çözeltisini 37 santigrat dereceye ısıtarak ekleyin ve hücreler ayrılana kadar bekleyin; bu süre genellikle yaklaşık 5 dakika sürer. Taze besiyeri ekleyerek tripsini nötralize edin, ardından hücre karışımını bir tüpe aktarın ve santrifüjleyin. Santrifüjden sonra süpernatantı çıkarın, hücre pelletini taze kültür ortamında yeniden süspansiyon edin ve süspansiyonu yeni şişelere aktarın. 0,5 mg/ml nihai konsantrasyon elde etmek için kültür ortamına G418 ekleyin

**Split ratio** 1:3 ile 1:4 arası bir oran önerilir

**Seeding density** 2 ila 4 x 10<sup>4</sup> hücre/cm<sup>2</sup>

**Fluid renewal** haftada 2 ila 3 kez

**Freeze medium** Kriyoprezervasyon ortamı olarak, yeterli çözülme sonrası canlılık için tam büyüme ortamı (FBS dahil) + %10 DMSO veya iyileşmeyi artırmak ve kriyo-indüklenmiş stresi azaltmak için optimize edilmiş ozmoprotektanlar ve metabolik stabilizatörler içeren CM-1 (Cytion katalog numarası 800100) kullanıyoruz.

## NRK-EGFP-H2B Hücreleri | 500724

**Thawing and  
Culturing Cells**

1. Hücreler taşıma sırasında optimum sıcaklıkları korumak için kuru buz üzerinde gönderildiğinden, flakonun teslimat sırasında derin dondurulmuş halde kaldığını teyit edin.
2. Teslim aldıktan sonra, hücresel bütünlüğün korunmasını sağlamak için kriyovialı hemen -150°C'nin altındaki sıcaklıklarda saklayın veya hemen kültürleme gerekiyorsa 3. adıma geçin.
3. Derhal kültürleme için flakonun temiz su ve antimikrobiyal bir madde içeren 37°C'lik bir su banyosuna daldırıp küçük bir buz kümesi kalana kadar 40-60 saniye boyunca hafifçe çalkalayarak hızlıca çözün.
4. Sonraki tüm adımları steril koşullar altında bir akış başlığı içinde gerçekleştirin ve açmadan önce kriyoviyalleri %70 etanol ile dezenfekte edin.
5. Dezenfekte edilmiş flakonun dikkatlice açın ve hücre süspansiyonunu 8 ml oda sıcaklığında kültür ortamı içeren 15 ml'lik bir santrifüj tüpüne aktarın ve hafifçe karıştırın.
6. Hücreleri ayırmak için karışımı 300 x g'de 3 dakika santrifüjleyin ve artık dondurma ortamı içeren süpernatantı dikkatlice atın.
7. Hücre pelletini 10 ml taze kültür ortamında yavaşça yeniden süspansiyon edin. Yapışık hücreler için, süspansiyonu iki T25 kültür şişesi arasında bölün; süspansiyon kültürleri için, etkili hücre etkileşimini ve büyümesini teşvik etmek üzere tüm ortamı tek bir T25 şişesine aktarın.
8. Hücre hattının sürekli büyümesi ve bakımı için belirlenmiş alt kültür protokollerine uyun ve güvenilir deneysel sonuçlar elde edin.

**Incubation  
Atmosphere**

37°C, %5<sub>CO2</sub>, nemlendirilmiş atmosfer.

**Flask Coating**

Yok

**Freezing  
Procedure**

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

**Shipping  
Conditions**

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

## NRK-EGFP-H2B Hücresleri | 500724

### Storage Conditions

Uzun süreli muhafaza için flakonları yaklaşık -150 ila -196 °C'de buhar fazlı sıvı nitrojen içine yerleştirin. 80 °C'de saklama yalnızca sıvı nitrojene aktarılmadan önce kısa bir ara adım olarak kabul edilebilir.

## Kalite kontrol / Genetik profil / HLA

### Sterility

Mikoplazma kontaminasyonu hem PCR tabanlı tahliller hem de lüminesans tabanlı mikoplazma tespit yöntemleri kullanılarak dışlanır.

Bakteriyel, fungal veya maya kontaminasyonu olmadığından emin olmak için hücre kültürleri günlük görsel incelemelere tabi tutulur.