

Клетки NRK-EGFP3-Seh1 | 500731

Обща информация

Description

Клетъчната линия NRK-EGFP3-Seh1 е стабилна клонова линия, получена от нормални плъши бъбречни клетки (NRK). Тази клетъчна линия е създадена чрез трансфекция на кръгова плазмида, кодираща фюжън протеина EGFP3-Seh1. След трансфекцията клетките са селектирани за лекарствена резистентност, което гарантира създаването на стабилна популация, експресираща желаните конструи.

Приблизително 50 % от клетките в тази популация експресират EGFP3-Seh1 - фюжън протеин, съчетаващ подобрен зелен флуоресцентен протеин (EGFP) със Seh1 - протеин, компонент на комплекса на ядрената пора. Наличието на EGFP улеснява визуализацията и проследяването на слятия протеин в клетките, което позволява на изследователите да изучават динамиката и функцията на Seh1 в различни клетъчни процеси. Експресията на EGFP3-Seh1 в тази клетъчна линия обаче показва известна вариативност, което показва променливост в нивата на експресия между отделните клетки в популацията.

Тази клетъчна линия е особено полезна за изследвания, свързани със сглобяването на ядрения порен комплекс, ядреноцитоплазмения транспорт и ролята на Seh1 в тези процеси. Флуоресценцията, осигурена от EGFP, позволява изобразяване на живи клетки и анализ в реално време на локализацията и взаимодействията на протеините, което прави NRK-EGFP3-Seh1 ценен инструмент за клетъчна биология и молекулярни изследвания.

Organism Плъх

Tissue Бъбреци

Synonyms NRK EGFP3-Seh1

Характеристики

Breed/Subspecies OsborneMendel

Morphology Фибробластоподобни клетки с фузиформена форма

Growth properties Монослой, прилепнал

Регулаторни данни

Citation NRK-EGFP3-Seh1 (каталожен номер 500731 на Cytion)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10116

Клетки NRK-EGFP3-Seh1 | 500731

CellosaurusAccession CVCL_AV94

Depositor Лабораторията на Елънбърг (EMBL)

Биомолекуларни данни

Receptors expressed Епидермален растежен фактор (EGF), стимулираща мултипликацията активност (MSA)

Protein expression EGFP3-Seh1

Products Seh1 (SEH1 подобен нуклеопорин)

Работа с

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L глюкоза, w: 4 mM L-глутамин, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM натриев пируват (номер на изделието на Cytion 820300a)

Supplements Допълнете средата с 10% FBS, 0,5 mg/ml G418

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирайте, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.

Split ratio Препоръчва се съотношение от 1:3 до 1:4

Seeding density 2 до 4 x 10⁴ клетки/cm²

Fluid renewal 2 до 3 пъти седмично

Freeze medium Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки NRK-EGFP3-Seh1 | 500731**Thawing and
Culturing Cells**

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикуробен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

Няма

**Freezing
Procedure**

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки NRK-EGFP3-Seh1 | 500731

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196°C . Съхранението при -80°C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.