

Buňky NRK-EGFP3-Seh1 | 500731**Obecné informace****Description**

Buněčná linie NRK-EGFP3-Seh1 je klonální stabilní linie odvozená z buněk normální ledviny potkana (NRK). Tato buněčná linie byla vytvořena transfekcí kruhového plazmidu kódujícího fúzní protein EGFP3-Seh1. Po transfekci byly buňky selektovány na rezistenci k léčivům, čímž bylo zajištěno vytvoření stabilní populace exprimující požadovaný konstrukt.

Přibližně 50 % buněk v této populaci exprimuje EGFP3-Seh1, fúzní protein kombinující zesílený zelený fluorescenční protein (EGFP) s proteinem Seh1, který je součástí komplexu jaderných pórů. Přítomnost EGFP usnadňuje vizualizaci a sledování fúzního proteinu v buňkách, což vědcům umožňuje studovat dynamiku a funkci Seh1 v různých buněčných procesech. Expres EGFP3-Seh1 v této buněčné linii však vykazuje určitou variabilitu, což naznačuje proměnlivost úrovně exprese mezi jednotlivými buňkami v rámci populace.

Tato buněčná linie je zvláště užitečná pro studie zahrnující sestavování komplexu jaderných pórů, nukleocytoplazmatický transport a úlohu Seh1 v těchto procesech. Fluorescence, kterou poskytuje EGFP, umožňuje zobrazování živých buněk a analýzu lokalizace a interakcí proteinů v reálném čase, což z NRK-EGFP3-Seh1 činí cenný nástroj pro buněčnou biologii a molekulární výzkum.

Organism Krysy**Tissue** Ledviny**Synonyms** NRK EGFP3-Seh1**Charakteristika****Breed/Subspecies** OsborneMendel**Morphology** Fibroblastům podobné buňky s fusiformním tvarem**Growth properties** Monovrstva, adherentní**Regulační údaje****Citation** NRK-EGFP3-Seh1 (katalogové číslo Cytion 500731)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10116**CellosaurusAccession** CVCL_AV94

Buňky NRK-EGFP3-Seh1 | 500731**Depositor** Ellenbergova laboratoř (EMBL)**Biomolekulární data****Receptors expressed** Epidermální růstový faktor (EGF), multiplikační stimulační aktivita (MSA)**Protein expression** EGFP3-Seh1**Products** Seh1 (SEH1 Like Nucleoporin)**Zpracování****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutaminu, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)**Supplements** Doplněte médium 10% FBS, 0,5 mg/ml G418**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpusťte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.**Split ratio** Doporučuje se poměr 1:3 až 1:4**Seeding density** 2 až 4 x 10⁴ buněk/cm²**Fluid renewal** 2 až 3krát týdně**Freeze medium** Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

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

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žádný

**Freezing
Procedure**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

**Shipping
Conditions**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Buňky NRK-EGFP3-Seh1 | 500731

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.