

## NRK-EGFP3-Seh1-celler | 500731

## Generel information

## Description

NRK-EGFP3-Seh1-cellelinjen er en klonal stabil linje, der stammer fra normale rotte-nyreceller (NRK). Denne cellelinje blev genereret gennem transfektion af et cirkulært plasmid, der koder for EGFP3-Seh1-fusionsproteinet. Efter transfektion blev cellerne udvalgt for lægemiddelresistens, hvilket sikrede etableringen af en stabil population, der udtrykte den ønskede konstruktion.

Omkring 50 % af cellerne i denne population udtrykker EGFP3-Seh1, et fusionsprotein, der kombinerer forstærket grønt fluorescerende protein (EGFP) med Seh1, en proteinkomponent i kerneporekomplekset. Tilstedeværelsen af EGFP gør det lettere at visualisere og spore fusionsproteinet i cellerne, hvilket gør det muligt for forskere at studere Seh1's dynamik og funktion i forskellige cellulære processer. Ekspressionen af EGFP3-Seh1 i denne cellelinje udviser dog en vis variation, hvilket indikerer variabilitet i eksppressionsniveauer mellem individuelle celler i populationen.

Denne cellelinje er især nyttig til undersøgelser, der involverer samling af nukleare porekomplekser, nukleocytoplasmatiske transport og Seh1's rolle i disse processer. Fluorescensen fra EGFP giver mulighed for billeddannelse af levende celler og realtidsanalyse af proteinlokalisering og interaktioner, hvilket gør NRK-EGFP3-Seh1 til et værdifuldt værktøj til cellebiologi og molekylær forskning.

**Organism** Rotte

**Tissue** Nyre

**Synonyms** NRK EGFP3-Seh1

## Karakteristika

**Breed/Subspecies** OsborneMendel

**Morphology** Fibroblastlignende celler med fusiform form

**Growth properties** Monolag, klæbende

## Regulatoriske data

**Citation** NRK-EGFP3-Seh1 (Cytion katalognummer 500731)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 10116

## NRK-EGFP3-Seh1-celler | 500731

**CellosaurusAccession** CVCL\_AV94**Depositor** Ellenberg-laboratoriet (EMBL)**Biomolekylære data****Receptors expressed** Epidermal vækstfaktor (EGF), multiplikationsstimulerende aktivitet (MSA)**Protein expression** EGFP3-Seh1**Products** Seh1 (SEH1-lignende nukleoporin)**Håndtering****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glukose, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)**Supplements** Suppler mediet med 10% FBS, 0,5 mg/mL G418**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspend cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.**Split ratio** Det anbefales at bruge et forhold på 1:3 til 1:4**Seeding density** 2 til  $4 \times 10^4$  celler/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal** 2 til 3 gange om ugen**Freeze medium** Som kryopræservesmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryoinduceret stress.

## NRK-EGFP3-Seh1-celler | 500731

### Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved  $300 \times g$  i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , befugtet atmosfære.

### Flask Coating

Ingen

### Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca.  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

### Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca.  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

## NRK-EGFP3-Seh1-celler | 500731

### Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

## Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

### Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.