

NRK-EGFP3-Seh1-Zellen | 500731

Allgemeine Informationen

Description

Die NRK-EGFP3-Seh1-Zelllinie ist eine klonale stabile Linie, die von normalen Rattennierenzellen (NRK) abstammt. Diese Zelllinie wurde durch die Transfektion eines zirkulären Plasmids erzeugt, das für das EGFP3-Seh1-Fusionsprotein kodiert. Nach der Transfektion wurden die Zellen auf Medikamentenresistenz selektiert, um die Etablierung einer stabilen Population zu gewährleisten, die das gewünschte Konstrukt exprimiert.

Etwa 50 % der Zellen in dieser Population exprimieren EGFP3-Seh1, ein Fusionsprotein, das ein verstärkt grün fluoreszierendes Protein (EGFP) mit Seh1, einer Proteinkomponente des Kernporenkomplexes, kombiniert. Das Vorhandensein von EGFP erleichtert die Visualisierung und Verfolgung des Fusionsproteins in den Zellen und ermöglicht es den Forschern, die Dynamik und Funktion von Seh1 in verschiedenen zellulären Prozessen zu untersuchen. Die Expression von EGFP3-Seh1 in dieser Zelllinie weist jedoch eine gewisse Variabilität auf, was auf unterschiedliche Expressionsniveaus in den einzelnen Zellen der Population hinweist.

Diese Zelllinie ist besonders nützlich für Studien, die sich mit dem Aufbau des Kernporenkomplexes, dem nukleozytoplasmatischen Transport und der Rolle von Seh1 bei diesen Prozessen befassen. Die von EGFP bereitgestellte Fluoreszenz ermöglicht die Bildgebung in lebenden Zellen und die Echtzeitanalyse der Proteinlokalisierung und -interaktionen, was NRK-EGFP3-Seh1 zu einem wertvollen Werkzeug für die Zellbiologie und die Molekularforschung macht.

Organism Ratte

Tissue Niere

Synonyms NRK EGFP3-Seh1

Merkmale

Breed/Subspecies OsborneMendel

Morphology Fibroblastenähnliche Zellen mit fusiformer Form

Growth properties Monolayer, haftend

Regulatorische Daten

Citation NRK-EGFP3-Seh1 (Cytion-Katalognummer 500731)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10116

NRK-EGFP3-Seh1-Zellen | 500731

CellosaurusAccession CVCL_AV94

Depositor Das Ellenberg-Labor (EMBL)

Biomolekulare Daten

Receptors expressed Epidermaler Wachstumsfaktor (EGF), Multiplikationsstimulierende Aktivität (MSA)

Protein expression EGFP3-Seh1

Products Seh1 (SEH1-ähnliches Nukleoporin)

Handhabung

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L Glucose, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM Natriumpyruvat (Cytion-Artikelnummer 820300a)

Supplements Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS, 0,5 mg/mL G418

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Entfernen Sie das alte Medium von den adhärennten Zellen und waschen Sie sie mit PBS, das kein Kalzium und Magnesium enthält. Für T25-Kolben 3-5 ml PBS und für T75-Kolben 5-10 ml verwenden. Anschließend werden die Zellen vollständig mit Accutase bedeckt, wobei 1-2 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben verwendet werden. Lassen Sie die Zellen 8-10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, um sie abzulösen. Nach der Inkubation mischen Sie die Zellen vorsichtig mit 10 ml Medium, um sie zu resuspendieren, und zentrifugieren sie dann 3 Minuten lang bei 300xg. Den Überstand verwerfen, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Kolben überführen, die bereits frisches Medium enthalten.

Split ratio Empfohlen wird ein Verhältnis von 1:3 bis 1:4

Seeding density 2 bis 4 x 10⁴ Zellen/cm²

Fluid renewal 2 bis 3 Mal pro Woche

Freeze medium Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

NRK-EGFP3-Seh1-Zellen | 500731

Thawing and Culturing Cells

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei $300 \times g$, um die Zellen abzutrennen, und werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhärenenten Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , befeuchtete Atmosphäre.

Flask Coating

Keine

Freezing Procedure

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

NRK-EGFP3-Seh1-Zellen | 500731

Shipping Conditions

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Storage Conditions

Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Qualitätskontrolle / Genetisches Profil / HLA

Sterility

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.

Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.