Product sheet

Κύτταρα NRK-EGFP3-Seh1 | 500731

Γενικές πληροφορίες

Description	Η κυτταρική σειρά NRK-EGFP3-Seh1 είναι μια κλωνική σταθερή σειρά που προέρχεται από κύτταρα φυσιολογικών νεφρών αρουραίου (NRK). Αυτή η κυτταρική σειρά δημιουργήθηκε μέσω της διαμόλυνσης ενός κυκλικού πλασμιδίου που κωδικοποιεί την πρωτεΐνη σύντηξης EGFP3-Seh1. Μετά τη διαμόλυνση, τα κύτταρα επιλέχθηκαν για ανθεκτικότητα στα φάρμακα, εξασφαλίζοντας τη δημιουργία ενός σταθερού πληθυσμού που εκφράζει την επιθυμητή κατασκευή. Περίπου το 50% των κυττάρων σε αυτόν τον πληθυσμό εκφράζουν την EGFP3-Seh1, μια πρωτεΐνη σύντηξης που συνδυάζει την ενισχυμένη πράσινη φθορίζουσα πρωτεΐνη (EGFP) με την Seh1, ένα πρωτεϊνικό συστατικό του συμπλόκου του πυρηνικού πόρου. Η παρουσία της EGFP διευκολύνει την οπτικοποίηση και την παρακολούθηση της πρωτεΐνης σύντηξης εντός των κυττάρων, επιτρέποντας στους ερευνητές να μελετήσουν τη δυναμική και τη λειτουργία της Seh1 σε διάφορες κυτταρικές διεργασίες. Ωστόσο, η έκφραση της EGFP3-Seh1 σε αυτή την κυτταρική σειρά παρουσιάζει κάποια ποικιλομορφία, υποδεικνύοντας μεταβλητότητα στα επίπεδα έκφρασης μεταξύ μεμονωμένων κυττάρων εντός του πληθυσμού. Αυτή η κυτταρική σειρά είναι ιδιαίτερα χρήσιμη για μελέτες που αφορούν τη συγκρότηση του συμπλέγματος των πυρηνικών πόρων, την πυρηνοκυτταροπλασματική μεταφορά και τον ρόλο της Seh1 σε αυτές τις διαδικασίες. Ο φθορισμός που παρέχει η EGFP επιτρέπει την απεικόνιση ζωντανών κυττάρων και την ανάλυση σε πραγματικό χρόνο του εντοπισμού και των αλληλεπιδράσεων των πρωτεϊνών, καθιστώντας την NRK-EGFP3-Seh1 ένα πολύτιμο εργαλείο για την κυτταρική βιολογία και τη μοριακή έρευνα.
Organism	Αρουραίος
Tissue	Νεφρός
Synonyms	NRK EGFP3-Seh1

Χαρακτηριστικά

Breed/Subspecies	OsborneMendel
Morphology	Κύτταρα που μοιάζουν με ινοβλάστες και έχουν φουσκοειδές σχήμα
Growth properties	Μονοστρωματική, προσκολλημένη

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation	NRK-EGFP3-Seh1 (αριθμός καταλόγου Cytion 500731)
Biosafety level	1

Κύτταρα NRK-EGFP3-Seh1 | 500731

NCBI_TaxID	10116
CellosaurusAccession	CVCL_AV94
Depositor	Εργαστήριο Ellenberg (EMBL)

Βιομοριακά δεδομένα

Receptors expressed	Επιδερμικός αυξητικός παράγοντας (EGF), δραστηριότητα διέγερσης του πολλαπλασιασμού (MSA)
Protein expression	EGFP3-Seh1
Products	Seh1 (SEH1 όπως η νουκλεοπορίνη)

Χειρισμός

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L γλυκόζη, w: 4 mM L-γλουταμίνη, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM πυρουβικό νάτριο (αριθμός άρθρου Cytion 820300a)
Supplements	Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS, 0,5 mg/mL G418
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.
Seeding density	2 έως 4 x 10^4 κύτταρα/cm^2
Fluid renewal	2 έως 3 φορές την εβδομάδα
Freeze medium	Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Κύτταρα NRK-EGFP3-Seh1 | 500731

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.

2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.

3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.

4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.

5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.

6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.

7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.

8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, υγροποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Για βέλτιστη προσκόλληση και βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, συνιστούμε τη χρήση **φιαλών ή πλακών με επικάλυψη κολλαγόνου**.

Freezing Procedure

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Κύτταρα NRK-EGFP3-Seh1 | 500731

Shipping Conditions	Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.
Storage Conditions	Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

Sterility	Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια. Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.