

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.**Split ratio** Συνιστάται αναλογία 1:3 έως 1:4**Seeding density** 2 έως 4 x 10⁴ κύτταρα/cm²**Fluid renewal** 2 έως 3 φορές την εβδομάδα

Κύτταρα NRK-EGFP3-Seh1 | 500731**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.

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 $300 \times g$ 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% CO_2 , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Κανένα

Κύτταρα NRK-EGFP3-Seh1 | 500731

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.

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.