

## NRK-EGFP3-Seh1 rakud | 500731

## Üldine teave

## Description

NRK-EGFP3-Seh1 rakuliin on kлонаalne stabiilne liin, mis on saadud normaalsetest roti neerurakkudest (NRK). See rakuliin on loodud EGFP3-Seh1 fusioonvalku kodeeriva tsükliilise plasmidi transfektsiooni teel. Pärast transfektsiooni selekteeriti rakud ravimresistentsuse suhtes, et tagada soovitud konstruktsiooni ekspresseeriva stabiilse populatsiooni loomine.

Ligikaudu 50% selle populatsiooni rakkudest ekspresseerib EGFP3-Seh1, mis on fusioonvalk, mis ühendab töhustatud roheliselt fluorestseeruvat valku (EGFP) ja Seh1, mis on tuumapoorikompleksi valgu komponent. EGFP olemasolu hõlbustab fusioonvalgu visualiseerimist ja jälgimist rakkudes, mis võimaldab teadlastel uurida Seh1 dünaamikat ja funktsiooni erinevates rakuprotsessides. EGFP3-Seh1 ekspressioon selles rakuliinis on siiski mõnevõrra varieeruv, mis viitab ekspressiooni taseme varieeruvusele üksikute rakkude vahel populatsiooni sees.

See rakuliin on eriti kasulik uuringute jaoks, mis hõlmavad tuumapoorikompleksi kokkupanekut, nukleotsütoplasma transporti ja Seh1 rolli nendes protsessides. EGFP fluorestsentsi abil on võimalik rakkude kujutamine ja valkude lokaliseerimise ja interaktsioonide reaajas analüüs, mis muudab NRK-EGFP3-Seh1 väärtuslikuks vahendiks rakubioloogias ja molekulaaruuringutes.

**Organism** Rott

**Tissue** Neerud

**Synonyms** NRK EGFP3-Seh1

## Omadused

**Breed/Subspecies** OsborneMendel

**Morphology** Fibroblastitaolised fusiformse kujuga rakud

**Growth properties** Monokihiline, kleepuv

## Regulatiivsed andmed

**Citation** NRK-EGFP3-Seh1 (Cytioni katalooginumbriga 500731)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 10116

## NRK-EGFP3-Seh1 rakud | 500731

**CellosaurusAccession** CVCL\_AV94**Depositor** Ellenbergi labor (EMBL)**Biomolekulaarsed andmed****Receptors expressed** Epidermise kasvufaktor (EGF), paljunemist stimuleeriv toime (MSA)**Protein expression** EGFP3-Seh1**Products** Seh1 (SEH1 nagu nukleoporiin)**Töötlemine****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glükoosi, w: 4 mM L-glutamiini, w: 3,7 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM naatriumpüruvaati (Cytioni artikli number 820300a)**Supplements** Täiendada söötme 10% FBS, 0,5 mg/ml G418-ga**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Eemaldage kleepunud rakkudelt vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifugeerige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.**Split ratio** Soovitav on suhe 1:3 kuni 1:4**Seeding density** 2 kuni  $4 \times 10^4$  rakku/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal** 2 kuni 3 korda nädalas**Freeze medium** Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumbriga 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

## NRK-EGFP3-Seh1 rakud | 500731

**Thawing and  
Culturing Cells**

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu  $300 \times g$  juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation  
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , niisutatud atmosfäär.

**Flask Coating**

Puudub

**Freezing  
Procedure**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Shipping  
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**NRK-EGFP3-Seh1 rakud | 500731**

**Storage  
Conditions**

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

**Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA**

**Sterility**

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.