

NRK-EGFP3-Seh1 sejtek | 500731

Általános információk

Description

Az NRK-EGFP3-Seh1 sejtvonalt egy normális patkányvese (NRK) sejtekből származó stabil klonális vonal. Ezt a sejtvonalt az EGFP3-Seh1 fúziós fehérjét kódoló cirkuláris plazmid transzfekeciójával hozták létre. A transzfekeciót követően a sejteket gyógyszerrezisztenciára szelektálták, biztosítva a kívánt konstrukciót expresszáló stabil populáció létrehozását.

A sejtek körülbelül 50%-a expresszálja az EGFP3-Seh1-et, amely egy fúziós fehérje, amely a fokozott zöld fluoreszcens fehérjét (EGFP) és a Seh1-et, a nukleáris pórus komplex egyik fehérjekomponensét kombinálja. Az EGFP jelenléte megkönnyíti a fúziós fehérje láthatóvá tételét és nyomon követését a sejteken belül, lehetővé téve a kutatók számára a Seh1 dinamikájának és működésének tanulmányozását a különböző sejtfolymatokban. Az EGFP3-Seh1 expressziója azonban ebben a sejtvonaltban némi variációt mutat, ami a populáción belüli egyes sejtek expressziós szintjének változékonyságára utal.

Ez a sejtvonalt különösen hasznos a nukleáris pórus komplex összeszerelésével, a nukleocitoplazmatikus transzporttal és a Seh1 szerepével kapcsolatos vizsgálatokhoz. Az EGFP által biztosított fluoreszcencia lehetővé teszi az élő sejtek képalkotását és a fehérjék lokalizációjának és kölcsönhatásainak valós idejű elemzését, így az NRK-EGFP3-Seh1 értékes eszköz a sejtbiológiai és molekuláris kutatások számára.

Organism Patkány

Tissue Vese

Synonyms NRK EGFP3-Seh1

Jellemzők

Breed/Subspecies OsborneMendel

Morphology Fibroblaszt-szerű, fusiform alakú sejtek

Growth properties Monoréteg, tapadó

Szabályozási adatok

Citation NRK-EGFP3-Seh1 (Cytion katalógusszám: 500731)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10116

NRK-EGFP3-Seh1 sejtek | 500731

CellosaurusAccession CVCL_AV94**Depositor** Az Ellenberg Labor (EMBL)**Biomolekuláris adatok****Receptors expressed** Epidermális növekedési faktor (EGF), szaporodást serkentő aktivitás (MSA)**Protein expression** EGFP3-Seh1**Products** Seh1 (SEH1-szerű nukleoporin)**A kezelése****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glükóz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM nátrium-piruvát (Cytion cikkszám 820300a)**Supplements** A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel, 0,5 mg/ml G418-zal**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.**Split ratio** 1:3 és 1:4 közötti arányt javasolunk**Seeding density** 2-4 x 10⁴ sejt/cm²**Fluid renewal** hetente 2-3 alkalommal**Freeze medium** Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

NRK-EGFP3-Seh1 sejtek | 500731

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150 °C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37 °C -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a kriofülkét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C , 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

Nincs

**Freezing
Procedure**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

**Shipping
Conditions**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

NRK-EGFP3-Seh1 sejtek | 500731

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatói módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.