

**Sel NRK-EGFP3-Seh1 | 500731****Informasi umum****Description**

Garis sel NRK-EGFP3-Seh1 adalah garis stabil klonal yang berasal dari sel ginjal tikus normal (NRK). Garis sel ini dihasilkan melalui transfeksi plasmid melingkar yang mengkode protein fusi EGFP3-Seh1. Setelah transfeksi, sel dipilih untuk resistensi obat, memastikan pembentukan populasi yang stabil yang mengekspresikan konstruk yang diinginkan.

Sekitar 50% sel dalam populasi ini mengekspresikan EGFP3-Seh1, protein fusi yang menggabungkan protein fluoresen hijau yang disempurnakan (EGFP) dengan Seh1, komponen protein dari kompleks pori nuklir. Kehadiran EGFP memfasilitasi visualisasi dan pelacakan protein fusi di dalam sel, sehingga memungkinkan para peneliti untuk mempelajari dinamika dan fungsi Seh1 dalam berbagai proses seluler. Namun, ekspresi EGFP3-Seh1 dalam garis sel ini menunjukkan beberapa variasi, yang menunjukkan variabilitas tingkat ekspresi di antara sel-sel individu dalam populasi.

Garis sel ini sangat berguna untuk penelitian yang melibatkan perakitan kompleks pori nuklir, transpor nukleositoplasma, dan peran Seh1 dalam proses ini. Fluoresensi yang disediakan oleh EGFP memungkinkan pencitraan sel hidup dan analisis waktu nyata dari lokalisasi dan interaksi protein, menjadikan NRK-EGFP3-Seh1 alat yang berharga untuk biologi sel dan penelitian molekuler.

**Organism** Tikus**Tissue** Ginjal**Synonyms** NRK EGFP3-Seh1**Karakteristik****Breed/Subspecies** OsborneMendel**Morphology** Sel mirip fibroblas dengan bentuk fusiform**Growth properties** Monolayer, patuh**Data Peraturan****Citation** NRK-EGFP3-Seh1 (nomor katalog Cytion 500731)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 10116

**Sel NRK-EGFP3-Seh1 | 500731****CellosaurusAccession** CVCL\_AV94**Depositor** Laboratorium Ellenberg (Ellenberg Lab) (EMBL)**Data Biomolekuler****Receptors expressed** Faktor pertumbuhan epidermal (EGF), aktivitas stimulasi multiplikasi (MSA)**Protein expression** EGFP3-Seh1**Products** Seh1 (SEH1 Like Nucleoporin)**Penanganan****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L Glukosa, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM Natrium piruvat (Nomor artikel Cytion 820300a)**Supplements** Tambahkan media dengan 10% FBS, 0,5 mg/mL G418**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Buang media lama dari sel yang melekat dan cuci dengan PBS yang tidak mengandung kalsium dan magnesium. Untuk labu T25, gunakan 3-5 ml PBS, dan untuk labu T75, gunakan 5-10 ml. Kemudian, tutupi sel sepenuhnya dengan Accutase, menggunakan 1-2 ml untuk labu T25 dan 2,5 ml untuk labu T75. Biarkan sel diinkubasi pada suhu kamar selama 8-10 menit untuk melepaskannya. Setelah inkubasi, campurkan sel secara perlahan dengan 10 ml medium untuk meresuspensi sel, kemudian sentrifugasi pada 300xg selama 3 menit. Buang supernatan, resuspensi sel dalam medium segar, dan pindahkan ke dalam labu baru yang sudah berisi medium segar.**Split ratio** Disarankan untuk menggunakan perbandingan 1:3 hingga 1:4**Seeding density** 2 hingga  $4 \times 10^4$  sel/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal** 2 hingga 3 kali per minggu**Freeze medium** Sebagai media kriopreservasi, kami menggunakan media pertumbuhan lengkap (termasuk FBS) + 10% DMSO untuk viabilitas pasca-pencairan yang memadai, atau CM-1 (nomor katalog Cytion 800100), yang mencakup osmoprotektan yang dioptimalkan dan penstabil metabolisme untuk meningkatkan pemulihan dan mengurangi stres yang diinduksi kriopreservasi.

**Sel NRK-EGFP3-Seh1 | 500731**

**Thawing and  
Culturing Cells**

1. Pastikan botol tetap dalam keadaan beku pada saat pengiriman, karena sel dikirim dengan es kering untuk mempertahankan suhu optimal selama perjalanan.
2. Setelah diterima, segera simpan cryovial pada suhu di bawah  $-150^{\circ}\text{C}$  untuk memastikan pelestarian integritas sel, atau lanjutkan ke langkah 3 jika kultur segera diperlukan.
3. Untuk kultur segera, segera cairkan botol dengan merendamnya dalam penangas air bersuhu  $37^{\circ}\text{C}$  dengan air bersih dan agen antimikroba, aduk perlahan selama 40-60 detik hingga gumpalan es kecil tetap ada.
4. Lakukan semua langkah selanjutnya dalam kondisi steril di dalam tudung alir, desinfektan kriovial dengan etanol 70% sebelum dibuka.
5. Buka botol yang telah didesinfeksi dengan hati-hati dan pindahkan suspensi sel ke dalam tabung sentrifugasi 15 ml yang berisi 8 ml media kultur suhu kamar, aduk perlahan.
6. Sentrifus campuran pada 300 x g selama 3 menit untuk memisahkan sel dan dengan hati-hati membuang supernatan yang mengandung sisa media pembekuan.
7. Resuspensi pelet sel dengan hati-hati dalam 10 ml medium kultur segar. Untuk sel yang melekat, bagi suspensi di antara dua labu kultur T25; untuk kultur suspensi, pindahkan semua media ke dalam satu labu T25 untuk mendorong interaksi dan pertumbuhan sel yang efektif.
8. Patuhi protokol subkultur yang telah ditetapkan untuk pertumbuhan dan pemeliharaan garis sel yang berkelanjutan, memastikan hasil eksperimental yang andal.

**Incubation  
Atmosphere**

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , atmosfer yang dilembapkan.

**Flask Coating**

Tidak ada

**Freezing  
Procedure**

Lini sel kriopreservasi dikirim di atas es kering dalam kemasan terisolasi yang divalidasi dengan refrigeran yang cukup untuk mempertahankan suhu sekitar  $-78^{\circ}\text{C}$  selama perjalanan. Setelah diterima, segera periksa wadah dan pindahkan botol tanpa penundaan ke tempat penyimpanan yang sesuai.

**Shipping  
Conditions**

Lini sel kriopreservasi dikirim di atas es kering dalam kemasan terisolasi yang divalidasi dengan refrigeran yang cukup untuk mempertahankan suhu sekitar  $-78^{\circ}\text{C}$  selama perjalanan. Setelah diterima, segera periksa wadah dan pindahkan botol tanpa penundaan ke tempat penyimpanan yang sesuai.

**Sel NRK-EGFP3-Seh1 | 500731**

**Storage  
Conditions**

Untuk pengawetan jangka panjang, tempatkan botol dalam nitrogen cair fase uap pada suhu sekitar -150 hingga -196 °C. Penyimpanan pada suhu -80 °C hanya dapat diterima sebagai langkah sementara sebelum dipindahkan ke nitrogen cair.

**Kontrol kualitas / Profil genetik / HLA**

**Sterility**

Kontaminasi mikoplasma disingkirkan dengan menggunakan tes berbasis PCR dan metode deteksi mikoplasma berbasis pendaran.

Untuk memastikan tidak ada kontaminasi bakteri, jamur, atau ragi, kultur sel menjalani inspeksi visual setiap hari.