

NRK-EGFP3-Seh1 ląstelės | 500731

Bendra informacija

Description

NRK-EGFP3-Seh1 ląstelių linija yra stabili kloninė linija, gauta iš normalių žiurkių inkstų (NRK) ląstelių. Ši ląstelių linija buvo sukurta transfekcijos būdu naudojant apvalią plazmidę, koduojančią EGFP3-Seh1 sintezės baltymą. Po transfekcijos ląstelės buvo atrinktos dėl atsparumo vaistams, taip užtikrinant, kad būtų sukurta stabili populiacija, ekspresuojanti norimą konstrukta.

Maždaug 50 % šios populiacijos ląstelių išreiškia EGFP3-Seh1 - sintezės baltymą, jungiantį sustiprintą žaliąjį fluorescencinį baltymą (EGFP) ir Seh1 - branduolinių porų komplekso baltymą. Esant EGFP lengviau vizualizuoti ir sekėti sintezės baltymą ląstelėse, todėl mokslininkai gali tirti Seh1 dinamiką ir funkciją įvairiuose ląsteliniuose procesuose. Tačiau EGFP3-Seh1 raiška šioje ląstelių linijoje šiek tiek skiriasi, o tai rodo, kad atskirų populiacijos ląstelių raiškos lygis yra nevienodas.

Ši ląstelių linija ypač naudinga atliekant tyrimus, susijusius su branduolio porų komplekso surinkimu, nukleocitoplazminiu pernešimu ir Seh1 vaidmeniu šiuose procesuose. Dėl EGFP fluorescencijos galima matyti gyvasias ląsteles ir realiuoju laiku analizuoti baltymų lokalizaciją ir sąveiką, todėl NRK-EGFP3-Seh1 yra vertinga priemonė ląstelių biologijos ir molekuliniam tyrimams.

Organism Žiurkės

Tissue Inkstai

Synonyms NRK EGFP3-Seh1

Charakteristikos

Breed/Subspecies OsborneMendel

Morphology Į fibroblastus panašios ląstelės, kurių forma yra susiliejanči

Growth properties Viensluoksnis, priglundęs

Reguliavimo duomenys

Citation NRK-EGFP3-Seh1 (Cytion katalogo numeris 500731)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10116

CellosaurusAccession CVCL_AV94

NRK-EGFP3-Seh1 ląstelės | 500731

Depositor Ellenbergo laboratorija (EMBL)

Biomolekuliniai duomenys

Receptors expressed Epidermio augimo veiksnys (EGF), dauginimąsi skatinantis aktyvumas (MSA)

Protein expression EGFP3-Seh1

Products Seh1 (j SEH1 panašus nukleoporinas)

Tvarkymas

Culture Medium DMEM, š: 4,5 g/l gliukozės, š: 4 mM L-glutamino, š: 3,7 g/l NaHCO₃, š: 1,0 mM natrio piruvato (Cytion gaminio numeris 820300a)

Supplements Papildykite terpę 10 % FBS, 0,5 mg/ml G418

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkeltite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.

Split ratio Rekomenduojamas santykis nuo 1:3 iki 1:4

Seeding density 2-4 x 10⁴ ląstelės/cm²

Fluid renewal 2-3 kartus per savaitę

Freeze medium Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

NRK-EGFP3-Seh1 ląstelės | 500731

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Nėra

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

NRK-EGFP3-Seh1 ląstelės | 500731

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystą azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.