

## NRK-EGFP3-Seh1 šūnas | 500731

## Vispārīga informācija

## Description

NRK-EGFP3-Seh1 šūnu līnija ir klonēta stabila līnija, kas iegūta no normālām žurku nieru (NRK) šūnām. Šī šūnu līnija tika radīta, transfekējot ar apļveida plazmīdu, kas kodē EGFP3-Seh1 saplūšanas proteīnu. Pēc transfekcijas šūnas atlasīja pēc rezistences pret zālēm, nodrošinot stabilas populācijas izveidi, kas ekspresē vēlamo konstrukciju.

Aptuveni 50 % šūnas šajā populācijā ekspresē EGFP3-Seh1 - saplūšanas proteīnu, kas apvieno uzlaboto zaļo fluorescējošo proteīnu (EGFP) ar Seh1 - kodola poru kompleksa proteīna sastāvdaļu. EGFP klātbūtne atvieglo saplūšanas proteīna vizualizāciju un izsekošanu šūnās, ļaujot pētniekiem pētīt Seh1 dinamiku un funkcijas dažādos šūnu procesos. Tomēr EGFP3-Seh1 ekspresija šajā šūnu līnijā ir nedaudz mainīga, kas norāda uz ekspresijas līmeņu dažādību starp atsevišķām šūnām populācijā.

Šī šūnu līnija ir īpaši noderīga pētījumiem, kas saistīti ar kodola poru kompleksa montāžu, nukleoplazmas transportu un Seh1 lomu šajos procesos. EGFP nodrošinātā fluorescences ļauj attēlot dzīvās šūnas un reāllaika proteīnu lokalizācijas un mijiedarbības analīzi, padarot NRK-EGFP3-Seh1 par vērtīgu rīku šūnu bioloģijā un molekulārajos pētījumos.

**Organism** Žurkas

**Tissue** Nieres

**Synonyms** NRK EGFP3-Seh1

## Raksturojums

**Breed/Subspecies** OsborneMendel

**Morphology** Fibroblastiem līdzīgas šūnas ar fusiformas formu

**Growth properties** Vienslāņa, adhēzija

## Normatīvie dati

**Citation** NRK-EGFP3-Seh1 (Cytion kataloga numurs 500731)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 10116

**CellosaurusAccession** CVCL\_AV94

## NRK-EGFP3-Seh1 šūnas | 500731

**Depositor** Ellenberga laboratorija (EMBL)

**Biomolekulārie dati**

**Receptors expressed** Epidermas augšanas faktors (EGF), multiplikāciju stimulējoša aktivitāte (MSA)

**Protein expression** EGFP3-Seh1

**Products** Seh1 (SEH1 līdzīgs nukleoporīns)

**Darbs ar**

**Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glikozes, w: 4 mM L-glutamīna, w: 3,7 g/l NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM nātrija piruvāta (Cytion izstrādājuma numurs 820300a)

**Supplements** Papildiniet barotni ar 10% FBS, 0,5 mg/ml G418

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Noņem veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.

**Split ratio** Ieteicamais proporcijas ir no 1:3 līdz 1:4

**Seeding density** 2 līdz  $4 \times 10^4$  šūnas/cm<sup>2</sup>

**Fluid renewal** 2 līdz 3 reizes nedēļā

**Freeze medium** Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanas un samazinātu krioinducēto stresu.

## NRK-EGFP3-Seq1 šūnas | 500731

### Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

### Incubation Atmosphere

37°C, 5%  $\text{CO}_2$ , mitrināta atmosfēra.

### Flask Coating

Neviens

### Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

## NRK-EGFP3-*Seh1* šūnas | 500731

### Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

### Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

## Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

### Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.