

## NRK-EGFP3-Seh1-cellen | 500731

## Algemene informatie

## Description

De NRK-EGFP3-Seh1 cellijn is een stabiele klonale lijn afgeleid van normale rattencellen (NRK). Deze cellijn werd gegenereerd door transfectie van een circulair plasmide dat codeert voor het fusie-eiwit EGFP3-Seh1. Na de transfectie werden de cellen geselecteerd op resistentie tegen geneesmiddelen, zodat er een stabiele populatie ontstond die het gewenste construct uitdrukt.

Ongeveer 50% van de cellen in deze populatie brengen EGFP3-Seh1 tot expressie, een fusie-eiwit dat versterkt groen fluorescerend eiwit (EGFP) combineert met Seh1, een eiwitcomponent van het nucleaire poriëncomplex. De aanwezigheid van EGFP maakt visualisatie en tracering van het fusie-eiwit in de cellen mogelijk, waardoor onderzoekers de dynamiek en functie van Seh1 in verschillende cellulaire processen kunnen bestuderen. De expressie van EGFP3-Seh1 in deze cellijn vertoont echter enige variatie, wat duidt op variabiliteit in expressieniveaus tussen individuele cellen binnen de populatie.

Deze cellijn is vooral nuttig voor studies waarbij de assemblage van het nucleaire poriëncomplex, nucleocytoplasmatisch transport en de rol van Seh1 in deze processen betrokken zijn. De fluorescentie van EGFP maakt live-cell beeldvorming en real-time analyse van eiwitlokalisatie en interacties mogelijk, waardoor NRK-EGFP3-Seh1 een waardevol hulpmiddel is voor celbiologie en moleculair onderzoek.

**Organism** Rat

**Tissue** Nieren

**Synonyms** NRK EGFP3-Seh1

## Kenmerken

**Breed/Subspecies** OsborneMendel

**Morphology** Fibroblast-achtige cellen met spoelvormige vorm

**Growth properties** Monolaag, adherent

## Regelgevende gegevens

**Citation** NRK-EGFP3-Seh1 (Cytion catalogusnummer 500731)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 10116

## NRK-EGFP3-Seh1-cellen | 500731

**CellosaurusAccession** CVCL\_AV94**Depositor** Het Ellenberg Lab (EMBL)**Biomoleculaire gegevens****Receptors expressed** Epidermale groeifactor (EGF), vermeerderingsstimulerende activiteit (MSA)**Protein expression** EGFP3-Seh1**Products** Seh1 (SEH1-achtig nucleoporine)**Omgaan met****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L Glucose, w: 4 mM L-Glutamine, w: 3,7 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM Natriumpyruvaat (Cytion artikelnummer 820300a)**Supplements** Vul het medium aan met 10% FBS, 0,5 mg/mL G418**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenden en vervolgens centrifugerend bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.**Split ratio** Een verhouding van 1:3 tot 1:4 wordt aanbevolen**Seeding density** 2 tot 4 x 10<sup>4</sup> cellen/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal** 2 tot 3 keer per week**Freeze medium** Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedum (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

## NRK-EGFP3-Seh1-cellen | 500731

### Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij  $300 \times g$  om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , bevochtigde atmosfeer.

### Flask Coating

Geen

### Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

### Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

## NRK-EGFP3-Seh1-cellen | 500731

### Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

## Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

### Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.