

## NRK-EGFP3-Seh1-celler | 500731

## Generell informasjon

## Description

NRK-EGFP3-Seh1-cellelinjen er en klonal, stabil linje avledet fra normale rottenyreceller (NRK). Denne cellelinjen ble generert gjennom transfeksjon av et sirkulært plasmid som koder for EGFP3-Seh1-fusjonsproteinet. Etter transfeksjon ble cellene selektert for medikamentresistens, noe som sikret etablering av en stabil populasjon som uttrykte den ønskede konstruksjonen.

Omtrent 50 % av cellene i denne populasjonen uttrykker EGFP3-Seh1, et fusjonsprotein som kombinerer forsterket grønt fluorescerende protein (EGFP) med Seh1, en proteinkomponent i kjerneporkomplekset. Tilstedeværelsen av EGFP gjør det lettere å visualisere og spore fusjonsproteinet i cellene, noe som gjør det mulig for forskere å studere dynamikken og funksjonen til Seh1 i ulike cellulære prosesser. Uttrykket av EGFP3-Seh1 i denne cellelinjen viser imidlertid en viss variasjon, noe som indikerer at uttrykksnivået varierer mellom de enkelte cellene i populasjonen.

Denne cellelinjen er spesielt nyttig for studier som involverer kjerneporkompleksmontering, nukleocytoplasmatiske transport og Seh1s rolle i disse prosessene. Fluorescensen som EGFP gir, gjør det mulig å avbilde levende celler og analysere proteinlokalisering og -interaksjoner i sanntid, noe som gjør NRK-EGFP3-Seh1 til et verdifullt verktøy for cellebiologi og molekylær forskning.

**Organism** Rotte

**Tissue** Nyre

**Synonyms** NRK EGFP3-Seh1

## Kjennetegn

**Breed/Subspecies** OsborneMendel

**Morphology** Fibroblastlignende celler med fusiform form

**Growth properties** Monolag, vedheftende

## Regulatoriske data

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

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 10116

## NRK-EGFP3-Seh1-celler | 500731

**CellosaurusAccession** CVCL\_AV94**Depositor** Ellenberg-laboratoriet (EMBL)**Biomolekylære data****Receptors expressed** Epidermal vekstfaktor (EGF), multiplikasjonsstimulerende aktivitet (MSA)**Protein expression** EGFP3-Seh1**Products** Seh1 (SEH1-lignende nukleopori)**Håndtering****Culture Medium** DMEM, m: 4,5 g/L glukose, m: 4 mM L-glutamin, m: 3,7 g/L NaHCO<sub>3</sub>, m: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikkelnummer 820300a)**Supplements** Suppler mediet med 10 % FBS, 0,5 mg/mL G418**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspendere cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.**Split ratio** Et forhold på 1:3 til 1:4 anbefales**Seeding density** 2 til  $4 \times 10^4$  celler/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal** 2 til 3 ganger per uke**Freeze medium** Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter optiming, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoinduisert stress.

## NRK-EGFP3-Seh1-celler | 500731

### Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved  $300 \times g$  i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , befuktet atmosfære.

### Flask Coating

Ingen

### Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca.  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

### Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca.  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

## NRK-EGFP3-Seh1-celler | 500731

### Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

## Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

### Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.