

Cellule NRK-EGFP3-Seh1 | 500731**Informații generale****Description**

Linia celulară NRK-EGFP3-Seh1 este o linie clonală stabilă derivată din celule normale de rinichi de șobolan (NRK). Această linie celulară a fost generată prin transfecția unei plasmide circulare care codifică proteina de fuziune EGFP3-Seh1. În urma transfecției, celulele au fost selectate pentru rezistența la medicamente, asigurând stabilirea unei populații stabile care exprimă construcția dorită.

Aproximativ 50 % din celulele din această populație exprimă EGFP3-Seh1, o proteină de fuziune care combină proteina fluorescentă verde îmbunătățită (EGFP) cu Seh1, o proteină componentă a complexului porului nuclear. Prezența EGFP facilitează vizualizarea și urmărirea proteinei de fuziune în interiorul celulelor, permițând cercetătorilor să studieze dinamica și funcția lui Seh1 în diverse procese celulare. Cu toate acestea, expresia EGFP3-Seh1 în această linie celulară prezintă unele variații, indicând variabilitatea nivelurilor de expresie în rândul celulelor individuale din cadrul populației.

Această linie celulară este deosebit de utilă pentru studiile care implică asamblarea complexului porilor nucleari, transportul nucleocitoplasmatic și rolul lui Seh1 în aceste procese. Fluorescența oferită de EGFP permite imagistica celulelor vii și analiza în timp real a localizării și interacțiunilor proteinelor, făcând din NRK-EGFP3-Seh1 un instrument valoros pentru biologia celulară și cercetarea moleculară.

Organism Șobolan**Tissue** Rinichi**Synonyms** NRK EGFP3-Seh1**Caracteristici****Breed/Subspecies** OsborneMendel**Morphology** Celule asemănătoare fibroblastelor cu formă fusiformă**Growth properties** Monostrat, aderent**Date de reglementare****Citation** NRK-EGFP3-Seh1 (număr de catalog Cytion 500731)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10116

Celule NRK-EGFP3-Seh1 | 500731**CellosaurusAccession** CVCL_AV94**Depositor** Laboratorul Ellenberg (EMBL)**Date biomoleculare****Receptors expressed** Factor de creștere epidermică (EGF), activitate de stimulare a multiplicării (MSA)**Protein expression** EGFP3-Seh1**Products** Seh1 (SEH1 Like Nucleoporin)**Manipulare****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glucoză, w: 4 mM L-glutamină, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM piruvat de sodiu (număr articol Cytion 820300a)**Supplements** Suplimentați mediul cu 10% FBS, 0,5 mg/mL G418**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Îndepărtați mediul vechi de pe celulele aderente și spălați-le cu PBS care nu conține calciu și magneziu. Pentru flacoanele T25, se utilizează 3-5 ml de PBS, iar pentru flacoanele T75, 5-10 ml. Apoi, se acoperă celulele complet cu Accutase, folosind 1-2 ml pentru flacoanele T25 și 2,5 ml pentru flacoanele T75. Lăsați celulele la incubare la temperatura camerei timp de 8-10 minute pentru a le detașa. După incubare, amestecați ușor celulele cu 10 ml de mediu pentru a le resuspenda, apoi centrifugați la 300xg timp de 3 minute. Aruncați supernatantul, resuspendați celulele în mediu proaspăt și transferați-le în flacoane noi care conțin deja mediu proaspăt.**Split ratio** Se recomandă un raport de 1:3 până la 1:4**Seeding density** 2 până la 4×10^4 cel^{ule}/cm²**Fluid renewal** de 2 până la 3 ori pe săptămână**Freeze medium** Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezghețare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanți optimizați și stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea și a reduce stresul indus de criogenie.

Celule NRK-EGFP3-Seh1 | 500731

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual.
7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă.
8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosferă umidificată.

Flask Coating

Niciuna

Freezing Procedure

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Shipping Conditions

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Celule NRK-EGFP3-Seh1 | 500731

Storage Conditions

Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

Controlul calității / Profil genetic / HLA

Sterility

Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență.

Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.