

NRK-EGFP3-Seh1-celler | 500731

Allmän information

Description

NRK-EGFP3-Seh1-cellinjen är en stabil klonal linje som härrör från normala råttjurceller (NRK). Denna cellinje genererades genom transfektion av en cirkulär plasmid som kodar för fusionsproteinet EGFP3-Seh1. Efter transfektion valdes cellerna ut med avseende på läkemedelsresistens, vilket säkerställde att en stabil population som uttryckte den önskade konstruktionen etablerades.

Cirka 50% av cellerna i denna population uttrycker EGFP3-Seh1, ett fusionsprotein som kombinerar förstärkt grönt fluorescerande protein (EGFP) med Seh1, en proteinkomponent i kärnporkomplexet. Närvaron av EGFP underlättar visualisering och spårning av fusionsproteinet i cellerna, vilket gör det möjligt för forskare att studera Seh1:s dynamik och funktion i olika cellulära processer. Uttrycket av EGFP3-Seh1 i denna cellinje uppvisar dock en viss variation, vilket indikerar variabilitet i uttrycksnivåer mellan enskilda celler inom populationen.

Denna cellinje är särskilt användbar för studier som involverar kärnporkomplexets sammansättning, nukleocytoplasmatisk transport och Seh1:s roll i dessa processer. Den fluorescens som EGFP ger möjliggör avbildning av levande celler och analys i realtid av proteinlokalisering och interaktioner, vilket gör NRK-EGFP3-Seh1 till ett värdefullt verktyg för cellbiologi och molekylär forskning.

Organism Råtta

Tissue Njurar

Synonyms NRK EGFP3-Seh1

Egenskaper

Breed/Subspecies OsborneMendel

Morphology Fibroblastliknande celler med fusiform form

Growth properties Monolager, vidhäftande

Lagstadgade uppgifter

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)**Biomolekylära data****Receptors expressed** Epidermal tillväxtfaktor (EGF), multiplikationsstimulerande aktivitet (MSA)**Protein expression** EGFP3-Seh1**Products** Seh1 (SEH1-liknande nukleoporin)**Hantering****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glukos, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)**Supplements** Komplettera mediet med 10% FBS, 0,5 mg/ml G418**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Ta bort det gamla mediet från de adherenta cellerna och tvätta dem med PBS som saknar kalcium och magnesium. Använd 3-5 ml PBS för T25-kolvar och 5-10 ml för T75-kolvar. Täck sedan cellerna helt med Accutase, använd 1-2 ml för T25-kolvar och 2,5 ml för T75-kolvar. Låt cellerna inkubera i rumstemperatur i 8-10 minuter så att de lossnar. Efter inkubationen, blanda cellerna försiktigt med 10 ml medium för att resuspendera dem och centrifugera sedan vid 300xg i 3 minuter. Kassera supernatanten, resuspendera cellerna i färskt medium och överför dem till nya kolvar som redan innehåller färskt medium.**Split ratio** Ett förhållande på 1:3 till 1:4 rekommenderas**Seeding density** 2 till 4×10^4 celler/cm²**Fluid renewal** 2 till 3 gånger per vecka**Freeze medium** Som kryokonservationsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

NRK-EGFP3-Seh1-celler | 500731

Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfryst vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under -150 °C för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett 37 °C vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeshuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid $300 \times g$ i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkanter; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

Incubation Atmosphere

37 °C , 5% CO_2 , befuktad atmosfär.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

Shipping Conditions

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

NRK-EGFP3-Seh1-celler | 500731

Storage Conditions

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik.

För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.