

**Bunky NRK-EGFP3-Seh1 | 500731****Všeobecné informácie****Description**

Bunková línia NRK-EGFP3-Seh1 je klonálna stabilná línia odvodená z buniek normálnych potkaních obličiek (NRK). Táto bunková línia bola vytvorená transfekciou kruhového plazmidu kódujúceho fúzny proteín EGFP3-Seh1. Po transfekcii boli bunky selektované na rezistenciu voči liekom, čím sa zabezpečilo vytvorenie stabilnej populácie exprimujúcej požadovaný konštrukt.

Približne 50 % buniek v tejto populácii exprimuje EGFP3-Seh1, fúzny proteín, ktorý kombinuje rozšírený zelený fluorescenčný proteín (EGFP) s proteínom Seh1, ktorý je súčasťou komplexu jadrových pórov. Prítomnosť EGFP uľahčuje vizualizáciu a sledovanie fúzneho proteínu v bunkách, čo umožňuje výskumníkom študovať dynamiku a funkciu Seh1 v rôznych bunkových procesoch. Expresia EGFP3-Seh1 v tejto bunkovej línii však vykazuje určitú variabilitu, čo naznačuje premenlivosť úrovni expresie medzi jednotlivými bunkami v rámci populácie.

Táto bunková línia je obzvlášť užitočná na štúdie týkajúce sa zostavovania komplexu jadrových pórov, nukleocytoplazmatického transportu a úlohy Seh1 v týchto procesoch. Fluorescencia, ktorú poskytuje EGFP, umožňuje zobrazovanie živých buniek a analýzu lokalizácie a interakcií proteínov v reálnom čase, vďaka čomu je NRK-EGFP3-Seh1 cenným nástrojom pre bunkovú biológiu a molekulárny výskum.

**Organism** Krasy**Tissue** Obličky**Synonyms** NRK EGFP3-Seh1**Charakteristika****Breed/Subspecies** OsborneMendel**Morphology** Fibroblastom podobné bunky s fusiformným tvarom**Growth properties** Monovrstva, priliehajúca**Regulačné údaje****Citation** NRK-EGFP3-Seh1 (katalógové číslo Cytion 500731)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 10116**CellosaurusAccession** CVCL\_AV94

**Bunky NRK-EGFP3-Seh1 | 500731****Depositor** Ellenbergova laboratória (EMBL)**Biomolekulárne údaje****Receptors expressed** Epidermálny rastový faktor (EGF), aktivita stimulujúca množenie (MSA)**Protein expression** EGFP3-Seh1**Products** Seh1 (SEH1 ako nukleoporín)**Spracovanie****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutamínu, w: 3,7 g/l NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)**Supplements** Doplníte médium o 10 % FBS, 0,5 mg/ml G418**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredíte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.**Split ratio** Odporúča sa pomer 1:3 až 1:4**Seeding density** 2 až 4 x 10<sup>4</sup> buniek/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal** 2 až 3-krát týždenne**Freeze medium** Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

**Bunky NRK-EGFP3-Seh1 | 500731****Thawing and  
Culturing Cells**

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

**Incubation  
Atmosphere**

37 °C, 5 %  $\text{CO}_2$ , zvlhčená atmosféra.

**Flask Coating**

Žiadne

**Freezing  
Procedure**

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

**Shipping  
Conditions**

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

## Bunky NRK-EGFP3-Seh1 | 500731

### Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

## Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

### Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.