

## Celice NRK-EGFP3-Seh1 | 500731

## Splošne informacije

## Description

Celična linija NRK-EGFP3-Seh1 je stabilna klonska linija, pridobljena iz celic normalnih ledvic podgan (NRK). Ta celična linija je bila ustvarjena s transfekcijo krožnega plazmida, ki kodira fuzijski protein EGFP3-Seh1. Po transfekciji so bile celice izbrane glede na odpornost proti zdravilom, kar je zagotovilo vzpostavitev stabilne populacije, ki izraža zeleni konstrukt.

Približno 50 % celic v tej populaciji izraža EGFP3-Seh1, fuzijski protein, ki združuje izboljššan zeleni fluorescenčni protein (EGFP) in Seh1, beljakovino, ki je sestavni del kompleksa jedrnih por. Prisotnost EGFP omogoča vizualizacijo in sledenje fuzijskega proteina v celicah, kar raziskovalcem omogoča preučevanje dinamike in delovanja Seh1 v različnih celičnih procesih. Vendar pa izražanje EGFP3-Seh1 v tej celični liniji kaže na določeno raznolikost, kar kaže na spremenljivost ravni izražanja med posameznimi celicami znotraj populacije.

Ta celična linija je še posebej uporabna za študije, ki vključujejo sestavljanje kompleksa jedrnih por, nukleocitoplazemski transport in vlogo Seh1 v teh procesih. Fluorescenca, ki jo zagotavlja EGFP, omogoča slikanje celic *in vivo* ter analizo lokalizacije in interakcij beljakovin v realnem času, zato je NRK-EGFP3-Seh1 dragoceno orodje za celično biologijo in molekularne raziskave.

**Organism** Podgana

**Tissue** Ledvice

**Synonyms** NRK EGFP3-Seh1

## Značilnosti

**Breed/Subspecies** OsborneMendel

**Morphology** Fibroblastom podobne celice s fusiformno obliko

**Growth properties** Enoslojni, adherentni

## Regulativni podatki

**Citation** NRK-EGFP3-Seh1 (kataloška številka Cytion 500731)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 10116

**CellosaurusAccession** CVCL\_AV94

## Celice NRK-EGFP3-Seh1 | 500731

**Depositor** Laboratorij Ellenberg (EMBL)

**Biomolekularni podatki**

**Receptors expressed** Epidermalni rastni dejavnik (EGF), aktivnost, ki spodbuja razmnoževanje (MSA)

**Protein expression** EGFP3-Seh1

**Products** Seh1 (SEH1 podoben nukleoporinu)

**Ravnanje s spletno stranjo**

**Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glukoze, w: 4 mM L-glutamina, w: 3,7 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM natrijevega piruvata (številka izdelka Cytion 820300a)

**Supplements** Gojišču dodajte 10 % FBS, 0,5 mg/ml G418

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavržite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.

**Split ratio** Priporoča se razmerje od 1:3 do 1:4

**Seeding density** 2 do 4 x 10<sup>4</sup> celic/cm<sup>2</sup>

**Fluid renewal** 2 do 3-krat na teden

**Freeze medium** Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročene s kriom.

## Celice NRK-EGFP3-Seh1 | 500731

### Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu krioviala takoj shranite pri temperaturi pod  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa krioviala razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri  $300 \times g$  3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , vlažno ozračje.

### Flask Coating

Nič

### Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

### Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

## Celice NRK-EGFP3-Seh1 | 500731

### Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vial postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

## Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

### Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.