

## NRK-EGFP3-Seh1 Hücreleri | 500731

## Genel bilgi

## Description

NRK-EGFP3-Seh1 hücre hattı, normal sıçan böbrek (NRK) hücrelerinden türetilen klonal stabil bir hattır. Bu hücre hattı, EGFP3-Seh1 füzyon proteinini kodlayan dairesel bir plazmidin transfeksiyonu yoluyla oluşturulmuştur. Transfeksiyonun ardından, hücreler ilaç direnci açısından seçilerek istenen yapıyı ifade eden stabil bir popülasyonun oluşturulması sağlanmıştır.

Bu popülasyondaki hücrelerin yaklaşık %50'si, gelişmiş yeşil floresan proteini (EGFP) nükleer gözenek kompleksinin bir protein bileşeni olan Seh1 ile birleştiren bir füzyon proteini olan EGFP3-Seh1'i ifade eder. EGFP'nin varlığı, füzyon proteininin hücreler içinde görselleştirilmesini ve izlenmesini kolaylaştırarak araştırmacıların çeşitli hücresel süreçlerde Seh1'in dinamiklerini ve işlevini incelemelerini sağlar. Bununla birlikte, bu hücre hattındaki EGFP3-Seh1 ekspresyonu, popülasyon içindeki tek tek hücreler arasında ekspresyon seviyelerindeki değişkenliği gösteren bir miktar alacalanma sergiler.

Bu hücre hattı, nükleer gözenek kompleksi montajı, nükleositoloplazmik taşıma ve Seh1'in bu süreçlerdeki rolünü içeren çalışmalar için özellikle yararlıdır. EGFP tarafından sağlanan floresan, canlı hücre görüntülemesine ve protein lokalizasyonu ve etkileşimlerinin gerçek zamanlı analizine izin vererek NRK-EGFP3-Seh1'i hücre biyolojisi ve moleküler araştırmalar için değerli bir araç haline getirir.

## Organism

Sıçan

## Tissue

Böbrek

## Synonyms

NRK EGFP3-Seh1

## Özellikler

## Breed/Subspecies

OsborneMendel

## Morphology

Fusiform şekilli fibroblast benzeri hücreler

## Growth properties

Tek katmanlı, yapışık

## Düzenleyici Veriler

## Citation

NRK-EGFP3-Seh1 (Cytion katalog numarası 500731)

## Biosafety level

1

## NCBI\_TaxID

10116

## NRK-EGFP3-Seh1 Hücreleri | 500731

**CellosaurusAccession** CVCL\_AV94**Depositor** Ellenberg Laboratuvarı (EMBL)**Biyomoleküler Veriler****Receptors expressed** Epidermal büyüme faktörü (EGF), çoğalmayı uyarıcı aktivite (MSA)**Protein expression** EGFP3-Seh1**Products** Seh1 (SEH1 Benzeri Nükleoporin)**Elleçleme****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L Glukoz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM Sodyum piruvat (Cytion ürün numarası 820300a)**Supplements** Ortamı %10 FBS, 0,5 mg/mL G418 ile takviye edin**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Yapışık hücrelerden eski ortamı çıkarın ve kalsiyum ve magnezyum içermeyen PBS ile yıkayın. T25 şişeleri için 3-5 ml PBS ve T75 şişeleri için 5-10 ml kullanın. Ardından, T25 flasklar için 1-2 ml ve T75 flasklar için 2,5 ml kullanarak hücreleri Accutase ile tamamen kaplayın. Hücreleri ayırmak için oda sıcaklığında 8-10 dakika inkübasyona bırakın. İnkübasyondan sonra, hücreleri yeniden süspansiyon etmek için 10 ml besiyeriyle hafifçe karıştırın, ardından 300xg'de 3 dakika santrifüjleyin. Süpernatantı atın, hücreleri taze besiyerinde yeniden süspansiyon edin ve zaten taze besiyeri içeren yeni şişelere aktarın.**Split ratio** 1:3 ile 1:4 arası bir oran önerilir**Seeding density** 2 ila  $4 \times 10^4$  hücre/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal** haftada 2 ila 3 kez**Freeze medium** Kriyoprezervasyon ortamı olarak, yeterli çözülme sonrası canlılık için tam büyüme ortamı (FBS dahil) + %10 DMSO veya iyileşmeyi artırmak ve kriyo-indüklenmiş stresi azaltmak için optimize edilmiş ozmoprotektanlar ve metabolik stabilizatörler içeren CM-1 (Cytion katalog numarası 800100) kullanıyoruz.

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

1. Hücreler taşıma sırasında optimum sıcaklıkları korumak için kuru buz üzerinde gönderildiğinden, flakonun teslimat sırasında derin dondurulmuş halde kaldığını teyit edin.
2. Teslim aldıktan sonra, hücresel bütünlüğün korunmasını sağlamak için kriyovialı hemen -150°C'nin altındaki sıcaklıklarda saklayın veya hemen kültürleme gerekiyorsa 3. adıma geçin.
3. Derhal kültürleme için flakonu temiz su ve antimikrobiyal bir madde içeren 37°C'lik bir su banyosuna daldırıp küçük bir buz kümesi kalana kadar 40-60 saniye boyunca hafifçe çalkalayarak hızlıca çözün.
4. Sonraki tüm adımları steril koşullar altında bir akış başlığı içinde gerçekleştirin ve açmadan önce kriyoviyalleri %70 etanol ile dezenfekte edin.
5. Dezenfekte edilmiş flakonu dikkatlice açın ve hücre süspansiyonunu 8 ml oda sıcaklığında kültür ortamı içeren 15 ml'lik bir santrifüj tüpüne aktarın ve hafifçe karıştırın.
6. Hücreleri ayırmak için karışımı 300 x g'de 3 dakika santrifüjleyin ve artık dondurma ortamı içeren süpernatantı dikkatlice atın.
7. Hücre peletini 10 ml taze kültür ortamında yavaşça yeniden süspansiyon edin. Yapışık hücreler için, süspansiyonu iki T25 kültür şişesi arasında bölün; süspansiyon kültürleri için, etkili hücre etkileşimini ve büyümesini teşvik etmek üzere tüm ortamı tek bir T25 şişesine aktarın.
8. Hücre hattının sürekli büyümesi ve bakımı için belirlenmiş alt kültür protokollerine uyun ve güvenilir deneysel sonuçlar elde edin.

**Incubation  
Atmosphere**

37°C, %5<sub>CO2</sub>, nemlendirilmiş atmosfer.

**Flask Coating**

Yok

**Freezing  
Procedure**

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

**Shipping  
Conditions**

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

## NRK-EGFP3-Seh1 Hücresleri | 500731

### Storage Conditions

Uzun süreli muhafaza için flakonları yaklaşık -150 ila -196 °C'de buhar fazlı sıvı nitrojen içine yerleştirin. 80 °C'de saklama yalnızca sıvı nitrojene aktarılmadan önce kısa bir ara adım olarak kabul edilebilir.

### Kalite kontrol / Genetik profil / HLA

#### Sterility

Mikoplazma kontaminasyonu hem PCR tabanlı tahliller hem de lüminesans tabanlı mikoplazma tespit yöntemleri kullanılarak dışlanır.

Bakteriyel, fungal veya maya kontaminasyonu olmadığından emin olmak için hücre kültürleri günlük görsel incelemelere tabi tutulur.