

Клітини NRK-EGFP3-Seh1 | 500731

Загальна інформація

Description

Клітинна лінія NRK-EGFP3-Seh1 - це клональна стабільна лінія, отримана з клітин нормальної нирки щура (NRK). Ця клітинна лінія була отримана шляхом трансфекції кільцевої плазмід, що кодує білок злиття EGFP3-Seh1. Після трансфекції клітини були відібрані на стійкість до лікарських препаратів, що забезпечило створення стабільної популяції, яка експресує бажану конструкцію.

Приблизно 50% клітин цієї популяції експресують EGFP3-Seh1, злитий білок, що поєднує посилений зелений флуоресцентний білок (EGFP) з Seh1, білковим компонентом ядерного порового комплексу. Присутність EGFP полегшує візуалізацію та відстеження злитого білка в клітинах, що дозволяє дослідникам вивчати динаміку та функції Seh1 в різних клітинних процесах. Однак експресія EGFP3-Seh1 в цій клітинній лінії демонструє певну варіабельність, що вказує на варіабельність рівнів експресії між окремими клітинами в межах популяції.

Ця лінія клітин є особливо корисною для досліджень, пов'язаних зі складанням ядерно-порового комплексу, нуклеоцитоплазматичним транспортом та роллю Seh1 у цих процесах. Флуоресценція EGFP дозволяє проводити візуалізацію живих клітин та аналіз локалізації та взаємодії білків у реальному часі, що робить NRK-EGFP3-Seh1 цінним інструментом для клітинної біології та молекулярних досліджень.

Organism Щур

Tissue Нирка

Synonyms NRK EGFP3-Seh1

Характеристики

Breed/Subspecies Осборн-Мендель

Morphology Фібробластоподібні клітини веретеноподібної форми

Growth properties Одношаровий, адгезійний

Нормативні дані

Citation NRK-EGFP3-Seh1 (номер за каталогом Cytion 500731)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10116

Клітини NRK-EGFP3-Seh1 | 500731

CellosaurusAccession CVCL_AV94**Depositor** Лабораторія Елленберга (EMBL)

Біомолекулярні дані

Receptors expressed Епідермальний фактор росту (EGF), активність, що стимулює розмноження (MSA)**Protein expression** EGFP3-Seh1**Products** Seh1 (SEH1 як нуклеопорин)

Обробка

Culture Medium ДМЕМ, w: 4,5 г/л Глюкоза, w: 4 мМ L-глутамін, w: 3,7 г/л NaHCO₃, w: 1,0 мМ піруват натрію (цит. номер 820300a)**Supplements** Додайте до середовища 10% FBS, 0,5 мг/мл G418**Dissociation Reagent** Аккутаза**Subculturing** Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.**Split ratio** Рекомендується співвідношення від 1:3 до 1:4**Seeding density** Від 2 до 4 x 10⁴ клітин / см²**Fluid renewal** 2-3 рази на тиждень**Freeze medium** Як середовище криоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або СМ-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

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

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче -150°C , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануливши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при $300 \times g$ протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтеся встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , волога атмосфера.

Flask Coating

Ні

**Freezing
Procedure**

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78°C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Клітини NRK-EGFP3-Seh1 | 500731

Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірених ізольованих упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Storage Conditions

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості / Генетичний профіль / HLA

Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.