

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 плазмиди, 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.**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 криоіндукованого 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 криовіал 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 криовіал 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

Для оптимального прикріплення та життєздатності після розморожування ми рекомендуємо використовувати **колби або пластини з колагеновим покриттям**.

Freezing Procedure

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній 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 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.

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.