

Tế bào NRK-EGFP3-Seh1 | 500731

Thông tin chung

Description

Dòng tế bào NRK-EGFP3-Seh1 là một dòng tế bào ổn định được phân lập từ tế bào thận chuột bình thường (NRK). Dòng tế bào này được tạo ra thông qua quá trình chuyển gen bằng plasmid tròn mã hóa protein liên hợp EGFP3-Seh1. Sau khi chuyển gen, các tế bào được chọn lọc dựa trên khả năng kháng thuốc, đảm bảo việc thiết lập một quần thể ổn định biểu hiện cấu trúc mong muốn.

Khoảng 50% tế bào trong quần thể này biểu hiện EGFP3-Seh1, một protein liên hợp kết hợp protein huỳnh quang xanh lá cây tăng cường (EGFP) với Seh1, một thành phần protein của phức hợp lỗ nhân. Sự hiện diện của EGFP giúp quan sát và theo dõi protein liên hợp trong tế bào, cho phép các nhà nghiên cứu nghiên cứu động học và chức năng của Seh1 trong các quá trình tế bào khác nhau. Tuy nhiên, sự biểu hiện của EGFP3-Seh1 trong dòng tế bào này có sự biến đổi, cho thấy sự khác biệt về mức độ biểu hiện giữa các tế bào riêng lẻ trong quần thể.

Dòng tế bào này đặc biệt hữu ích cho các nghiên cứu liên quan đến quá trình lắp ráp phức hợp lỗ nhân, vận chuyển nhân-chất tế bào và vai trò của Seh1 trong các quá trình này. Ánh sáng huỳnh quang do EGFP cung cấp cho phép quan sát tế bào sống và phân tích thời gian thực về vị trí và tương tác của protein, khiến NRK-EGFP3-Seh1 trở thành công cụ quý giá cho nghiên cứu sinh học tế bào và phân tử.

Organism Chuột

Tissue Thận

Synonyms NRK EGFP3-Seh1

Đặc điểm

Breed/Subspecies Osborne Mendel

Morphology Tế bào giống fibroblast có hình dạng fusiform

Growth properties Lớp đơn, bám dính

Dữ liệu quy định

Citation NRK-EGFP3-Seh1 (Số catalog của Cytion: 500731)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10116

CellosaurusAccession CVCL_AV94

Tế bào NRK-EGFP3-Seh1 | 500731

Depositor Phòng thí nghiệm Ellenberg (EMBL)

Dữ liệu sinh học phân tử

Receptors expressed Yếu tố tăng trưởng biểu bì (EGF), hoạt tính kích thích nhân lên (MSA)

Protein expression EGFP3-Seh1

Products Seh1 (Protein tương tự nucleoporin SEH1)

Xử lý

Culture Medium DMEM, chứa: 4,5 g/L glucose, chứa: 4 mM L-glutamine, chứa: 3,7 g/L NaHCO₃, chứa: 1,0 mM natri pyruvate (số hiệu sản phẩm Cytion 820300a)

Supplements Bổ sung vào môi trường nuôi cấy 10% huyết thanh bò phôi (FBS) và 0,5 mg/mL G418

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Loại bỏ môi trường nuôi cấy cũ khỏi các tế bào bám dính và rửa chúng bằng PBS không chứa canxi và magiê. Đối với bình T25, sử dụng 3-5 ml PBS, và đối với bình T75, sử dụng 5-10 ml. Sau đó, phủ hoàn toàn các tế bào bằng Accutase, sử dụng 1-2 ml cho bình T25 và 2,5 ml cho bình T75. Để tế bào ủ ở nhiệt độ phòng trong 8-10 phút để tách chúng ra. Sau khi ủ, nhẹ nhàng trộn tế bào với 10 ml môi trường để tái phân tán chúng, sau đó ly tâm ở 300xg trong 3 phút. Loại bỏ dịch trên, tái phân tán tế bào trong môi trường tươi và chuyển chúng vào các bình mới đã chứa môi trường tươi.

Split ratio Tỷ lệ khuyến nghị là từ 1:3 đến 1:4

Seeding density 2 đến 4×10^4 tế bào/cm²

Fluid renewal 2 đến 3 lần mỗi tuần

Freeze medium Như một môi trường bảo quản đông lạnh, chúng tôi sử dụng môi trường tăng trưởng hoàn chỉnh (bao gồm FBS) + 10% DMSO để đảm bảo độ sống sau khi rã đông, hoặc CM-1 (mã sản phẩm Cytion 800100), bao gồm các chất bảo vệ thẩm thấu và chất ổn định chuyển hóa được tối ưu hóa để nâng cao khả năng phục hồi và giảm stress do đông lạnh gây ra.

Tế bào NRK-EGFP3-Seh1 | 500731

Thawing and Culturing Cells

1. Xác nhận rằng ống nghiệm vẫn được đông lạnh sâu khi giao hàng, vì tế bào được vận chuyển trên đá khô để duy trì nhiệt độ tối ưu trong quá trình vận chuyển.
2. Khi nhận hàng, hãy bảo quản ống nghiệm đông lạnh ngay lập tức ở nhiệt độ dưới -150°C để đảm bảo tính toàn vẹn của tế bào, hoặc tiến hành bước 3 nếu cần nuôi cấy ngay lập tức.
3. Để nuôi cấy ngay lập tức, hãy rã đông ống nghiệm nhanh chóng bằng cách ngâm nó trong bồn nước 37°C với nước sạch và chất kháng khuẩn, khuấy nhẹ trong 40-60 giây cho đến khi còn lại một khối băng nhỏ.
4. Thực hiện tất cả các bước tiếp theo trong điều kiện vô trùng trong tủ hút khí, khử trùng ống cryovial bằng cồn 70% trước khi mở.
5. Mở ống đã khử trùng một cách cẩn thận và chuyển hỗn hợp tế bào vào ống ly tâm 15 ml chứa 8 ml môi trường nuôi cấy ở nhiệt độ phòng, khuấy nhẹ.
6. Ly tâm hỗn hợp ở $300 \times g$ trong 3 phút để tách tế bào và cẩn thận loại bỏ dịch siêu âm chứa môi trường đông lạnh còn lại.
7. Nhẹ nhàng hòa tan lại khối tế bào trong 10 ml môi trường nuôi cấy tươi. Đối với tế bào bám dính, chia hỗn hợp vào hai bình nuôi cấy T25; đối với tế bào nuôi cấy lơ lửng, chuyển toàn bộ môi trường vào một bình T25 để thúc đẩy tương tác và phát triển tế bào hiệu quả.
8. Tuân thủ các quy trình nuôi cấy con được thiết lập để duy trì sự phát triển và bảo quản dòng tế bào, đảm bảo kết quả thí nghiệm đáng tin cậy.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , môi trường ẩm.

Flask Coating

Không có

Freezing Procedure

Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng -78°C trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.

Shipping Conditions

Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng -78°C trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.

Tế bào NRK-EGFP3-Seh1 | 500731

Storage Conditions

Để bảo quản lâu dài, hãy đặt ống nghiệm vào nitơ lỏng ở pha hơi ở nhiệt độ khoảng -150 đến -196 °C. Việc bảo quản ở -80 °C chỉ được chấp nhận như một bước trung gian ngắn hạn trước khi chuyển sang nitơ lỏng.

Kiểm soát chất lượng / Hồ sơ di truyền / HLA

Sterility

Sự nhiễm khuẩn Mycoplasma được loại trừ bằng cả các phương pháp xét nghiệm dựa trên PCR và các phương pháp phát hiện Mycoplasma dựa trên phát quang.

Để đảm bảo không có nhiễm khuẩn vi khuẩn, nấm hoặc men, các mẫu nuôi cấy tế bào được kiểm tra trực quan hàng ngày.