NRK-EGFP3-Seh1

500731

INFORMACJE OGÓLNE

Opis

Linia komórkowa NRK-EGFP3-Seh1 jest klonalną stabilną linią pochodzącą z normalnych szczurzych komórek nerkowych (NRK). Ta linia komórkowa została wygenerowana poprzez transfekcję kolistego plazmidu kodującego białko fuzyjne EGFP3-Seh1. Po transfekcji komórki zostały wyselekcjonowane pod kątem oporności na leki, zapewniając ustanowienie stabilnej populacji wyrażającej pożądany konstrukt. Około 50% komórek w tej populacji wyraża EGFP3-Seh1, białko fuzyjne łączące wzmocnione zielone białko fluorescencyjne (EGFP) z Seh1, białkowym składnikiem kompleksu porów jądrowych. Obecność EGFP ułatwia wizualizację i śledzenie białka fuzyjnego w komórkach, umożliwiając naukowcom badanie dynamiki i funkcji Seh1 w różnych procesach komórkowych. Jednak ekspresja EGFP3-Seh1 w tej linii komórkowej wykazuje pewną zmienność, co wskazuje na zmienność poziomów ekspresji między poszczególnymi komórkami w populacji. Ta linia komórkowa jest szczególnie przydatna do badań obejmujących montaż kompleksu porów jądrowych, transport nukleocytoplazmatyczny i rolę Seh1 w tych procesach. Fluorescencja zapewniana przez EGFP pozwala na obrazowanie żywych komórek i analizę w czasie rzeczywistym lokalizacji i interakcji białek, dzięki czemu NRK-EGFP3-Seh1 jest cennym narzędziem w biologii komórki i badaniach molekularnych.

Chusteczka	Nerka

Synonimy

- NRK EGFP3-Seh1

KLASYFIKACJA

Organizm	Szczur
Właściwości związane ze wzrostem	Zwolennik
Poziom bezpieczeństwa biologicznego	1

CECHY CHARAKTERYSTYCZNE

Morfologia	Komórki podobne do fibroblastów o wrzecionowatym kształcie

IDENTYFIKATORY

Źródło

NRK-EGFP3-Seh1 (numer katalogowy Cytion 500731)

Numer identyfikacji podatkowej NCBI	10116
Cellosaurus	CVCL_AV94
Wkładca	Laboratorium Ellenberg (EMBL)

EKSPRESJA I PODATNOŚĆ

Receptory ulegające ekspresji

Epidermalny czynnik wzrostu (EGF), aktywność stymulująca namnażanie (MSA)

Ekspresja białek

EGFP3-Seh1

Produkty

Seh1 (nukleoporyna podobna do SEH1)

POSTĘPOWANIE I HODOWLA

Pożywka hodowlana

DMEM, w: 4,5 g/l glukozy, w: 4 mM L-glutaminy, w: 3,7 g/l NaHCO3, w: 1,0 mM pirogronianu sodu (numer artykułu Cytion 820300a)

Atmosfera inkubacyjna	37°C, 5%CO2, nawilżona atmosfera.

Suplementy

Uzupełnić podłoże 10% FBS, 0,5 mg/ml G418

Odczynnik dysocjacyjny	Accutase

Hodowla komórek w subkulturze

Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzucić supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.

Gęstość wysiewu	2 do 4 x 10^4 komórek/cm^2
Odnawianie płynów	2 do 3 razy w tygodniu

Rozmrażanie i hodowla

Confirm that the vial remains deeply frozen upon delivery, as cells are shipped on dry ice to maintain optimal temperatures during transit.
Upon receipt, either store the cryovial immediately at temperatures below -150°C to ensure the preservation of cellular integrity, or proceed to step 3 if immediate culturing is required.
For immediate culturing, swiftly thaw the vial by immersing it in a 37°C water bath with clean water and an antimicrobial agent, agitating gently for 40-60 seconds until a small ice clump remains.
Perform all subsequent steps under sterile conditions in a flow hood, disinfecting the cryovial with 70% ethanol before opening.
Carefully open the disinfected vial and transfer the cell suspension into a 15 ml centrifuge tube containing 8 ml of room-temperature culture medium, mixing gently.
Centrifuge the mixture at 300 x g for 3 minutes to separate the cells and carefully discard the supernatant containing residual freezing medium.
Gently resuspend the cell pellet in 10 ml of fresh culture medium. For adherent cells, divide the suspension between two T25 culture flasks; for suspension cultures, transfer all the medium into one T25 flask to promote effective cell interaction and growth.
Adhere to established subculture protocols for continued growth and maintenance of the cell line, ensuring reliable experimental outcomes.

KONTROLA JAKOŚCI I KRIOKONSERWACJA

Bezpłodność

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.
Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

Pożywka do zamrażania	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Warunki przechowywania

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C.
Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Warunki wysyłki

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

DARCZYŃCA

Rasa / podgatunek	OsborneMendel

KWESTIE PRAWNE I BEZPIECZEŃSTWO

Środki bezpieczeństwa

Planując przechowywanie kriofiolek w ciekłym azocie w celu ich późniejszego rozmrożenia, należy bezwzględnie przestrzegać rygorystycznych środków bezpieczeństwa. Niezbędne są odpowiednie rękawice i odzież ochronna, a podczas przenoszenia zamrożonych próbek do lub ze zbiornika z ciekłym azotem wymagane jest stosowanie maski lub okularów ochronnych. Ma to na celu zmniejszenie ryzyka obrażeń spowodowanych potencjalnymi eksplozjami kriowialu podczas wyjmowania, które mogą skutkować wyrzuceniem ostrych fragmentów.

Zastrzeżenie

Nasze komórki są dostarczane wyłącznie do celów badań laboratoryjnych in vitro i nie są przeznaczone do użytku klinicznego lub diagnostycznego, nie mogą być podawane ludziom ani wykorzystywane do celów weterynaryjnych. Użytkownicy muszą przestrzegać wszystkich obowiązujących wytycznych i przepisów dotyczących obchodzenia się z tymi komórkami i korzystania z nich w środowisku badawczym.

Gwarancja

W Cytion gwarantujemy jakość i żywotność naszych produktów.
Gwarantujemy, że nasze komórki będą żywotne na początku hodowli przez 60 dni po wysyłce z naszych zakładów.
Zapewniamy, że wszystkie materiały są zgodne ze specyfikacjami opisanymi w certyfikacie analizy i/lub karcie produktu
Szczegółowe informacje można znaleźć w naszej <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Oświadczeniu gwarancyjnym

Obowiązują umowy z podmiotami zewnętrznymi	Yes