NRK-EGFP3-Seh1

500731

SPLOŠNE INFORMACIJE

Opis

Celična linija NRK-EGFP3-Seh1 je stabilna klonska linija, pridobljena iz celic normalnih ledvic podgan (NRK). Ta celična linija je bila ustvarjena s transfekcijo krožnega plazmida, ki kodira fuzijski protein EGFP3-Seh1. Po transfekciji so bile celice izbrane glede na odpornost proti zdravilom, kar je zagotovilo vzpostavitev stabilne populacije, ki izraža želeni konstrukt.
Približno 50 % celic v tej populaciji izraža EGFP3-Seh1, fuzijski protein, ki združuje izboljšan zeleni fluorescenčni protein (EGFP) in Seh1, beljakovino, ki je sestavni del kompleksa jedrnih por. Prisotnost EGFP omogoča vizualizacijo in sledenje fuzijskega proteina v celicah, kar raziskovalcem omogoča preučevanje dinamike in delovanja Seh1 v različnih celičnih procesih. Vendar pa izražanje EGFP3-Seh1 v tej celični liniji kaže na določeno raznolikost, kar kaže na spremenljivost ravni izražanja med posameznimi celicami znotraj populacije.
Ta celična linija je še posebej uporabna za študije, ki vključujejo sestavljanje kompleksa jedrnih por, nukleocitoplazemski transport in vlogo Seh1 v teh procesih. Fluorescenca, ki jo zagotavlja EGFP, omogoča slikanje celic v živo ter analizo lokalizacije in interakcij beljakovin v realnem času, zato je NRK-EGFP3-Seh1 dragoceno orodje za celično biologijo in molekularne raziskave.

Tkivo	Ledvice

Sinonimi

- NRK EGFP3-Seh1

RAZVRSTITEV

Organizem	Podgana
Lastnosti rasti	Pripadnik
Stopnja biološke varnosti	1

ZNAČILNOSTI

Morfologija	Fibroblastom podobne celice s fusiformno obliko

IDENTIFIKATORJI

Navajanje vira

NRK-EGFP3-Seh1 (kataloška številka Cytion 500731)

Davčna identifikacijska številka NCBI	10116
Cellosaurus	CVCL_AV94
Vlagatelj	Laboratorij Ellenberg (EMBL)

IZRAŽANJE IN DOVZETNOST

Izraženi receptorji

Epidermalni rastni dejavnik (EGF), aktivnost, ki spodbuja razmnoževanje (MSA)

Ekspresija beljakovin

EGFP3-Seh1

Izdelki

Seh1 (SEH1 podoben nukleoporinu)

RAVNANJE IN GOJENJE

Gojišče

DMEM, w: 4,5 g/L glukoze, w: 4 mM L-glutamina, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM natrijevega piruvata (številka izdelka Cytion 820300a)

Inkubacijska atmosfera	37 °C, 5 %CO2, vlažno ozračje.

Prehranska dopolnila

Gojišču dodajte 10 % FBS, 0,5 mg/ml G418

Reagenca za disociacijo	Accutase

Preusmeritev v drugo kulturo

Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavrzite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.

Gostota setve	2 do 4 x 10^4 celic/cm^2
Obnova tekočine	2 do 3-krat na teden

Odtaljevanje in gojenje

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 KAKOVOSTI IN KRIOPREZERVACIJA

Sterilnost

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.
Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.

Medij za zamrzovanje	Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročenega s kriom.

Pogoji shranjevanja

Za dolgotrajno shranjevanje viale postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Pogoji dostave

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78 °C. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in viale nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

DONATOR

Pasma / podvrsta	OsborneMendel

PRAVNE ZADEVE IN VARNOST

Varnostni ukrepi

Pri načrtovanju shranjevanja kriovialov v tekočem dušiku za kasnejše odtaljevanje je treba obvezno upoštevati stroge varnostne ukrepe. Nujni so ustrezne zaščitne rokavice in oblačila, med prenosom zamrznjenih vzorcev v rezervoar s tekočim dušikom ali iz njega pa je potrebna uporaba obrazne maske ali zaščitnih očal. S tem se zmanjša tveganje poškodb zaradi morebitnih eksplozij kriovialov pri odstranjevanju, ki lahko povzročijo izstrelitev ostrih delcev.

Izjava o omejitvi odgovornosti

Naše celice so na voljo izključno za laboratorijske raziskave in vitro in niso namenjene za klinično ali diagnostično uporabo, niti jih ni dovoljeno dajati ljudem ali uporabljati v veterinarske namene. Uporabniki morajo upoštevati vse veljavne smernice in predpise za ravnanje in uporabo teh celic v raziskovalnem okolju.

Garancija

V podjetju Cytion stojimo za kakovostjo in uporabnostjo svojih izdelkov.
Zagotavljamo, da bodo naše celice ob začetku gojenja še 60 dni po odpremi iz naših obratov vitalne.
Zagotavljamo, da so vsi materiali skladni s specifikacijami, opisanimi v potrdilu o analizi in/ali listu izdelka
Za vse podrobnosti si oglejte našo <a href=""/Kdo smo/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Garancijsko izjavo

Veljajo pogodbe s tretjimi strankami	Yes