

Клетки NRK-EGFP2-Nup50 | 500726

Обща информация

Description

Клетъчната линия NRK-EGFP2-Nup50 е стабилна клонова клетъчна линия, получена от нормални плъши бъбречни клетки (NRK). Тази клетъчна линия е създадена чрез трансфекция на кръгова плазмида, съдържаща ген, кодиращ фюжън протеин от подобрен зелен флуоресцентен протеин (EGFP) и нуклеопорин 50 (Nup50), последвана от селекция за лекарствена резистентност. В резултат на това приблизително 50 % от клетките експресират фюжън протеина EGFP3-Nup50, което позволява визуализирането и проследяването на Nup50 в клетъчната среда.

Nup50 е критичен компонент на комплекса на ядрената пора, който отговаря за регулирането на преноса на молекули между ядрото и цитоплазмата. Тагът EGFP3 позволява да се правят изображения на живи клетки и други флуоресцентни техники за изследване на локализацията, динамиката и взаимодействията на Nup50. Въпреки че е стабилна клетъчна линия, клетките NRK-EGFP2-Nup50 показват известна вариабилност, което показва променливост в нивата на експресия на фюжън протеина EGFP3-Nup50 в клетките.

Тази клетъчна линия е особено ценна за изследвания, насочени към нуклеоцитоплазмения транспорт, динамиката на ядрения порен комплекс и функционалната роля на Nup50 в различни клетъчни процеси. Клетките NRK-EGFP2-Nup50 са подходящи за редица експериментални подходи, включително възстановяване на флуоресценцията след фотооблекчаване (FRAP), флуоресцентна корелационна спектроскопия (FCS) и други усъвършенствани микроскопски техники. Тези изследвания могат да предоставят информация за молекулярните механизми на ядрения транспорт и да допринесат за разбирането на болести, свързани с дисфункция на ядрения транспорт, като някои видове рак и невродегенеративни заболявания.

Organism Плъх

Tissue Бъбреци

Synonyms NRK EGFP2-Nup50

Характеристики

Breed/Subspecies OsborneMendel

Morphology Фибробластоподобни клетки с фузиформена форма

Growth properties Монослой, прилепнал

Регулаторни данни

Citation NRK-EGFP2-Nup50 (каталожен номер 500726 на Cytion)

Клетки NRK-EGFP2-Nup50 | 500726

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10116
CellosaurusAccession	CVCL_AV93
Depositor	Лабораторията на Елънбърг (EMBL)

Биомолекулярни данни

Receptors expressed Епидермален растежен фактор (EGF), стимулираща мултипликацията активност (MSA)

Protein expression EGFP3-Nup50

Products NUP50 (нуклеопорин 50)

Работа с

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L глюкоза, w: 4 mM L-глутамин, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM натриев пируват (номер на изделието на Cytion 820300a)

Supplements Допълнете средата с 10% FBS, 0,5 mg/ml G418

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Изхвърлете старата среда и промийте клетките с PBS. Добавете прясно приготвен 0,025% разтвор на трипсин/0,02% EDTA, загрят до 37 градуса по Целзий, и изчакайте, докато клетките се отделят, което обикновено отнема около 5 минути. Неутрализирайте трипсина, като добавите прясна среда, след което прехвърлете клетъчната смес в епруветка и центрофугирайте. След центрофугирането отстранете супернатантата, ресуспендирайте клетъчната пелета в прясна хранителна среда и прехвърлете суспензията в нови колби. Включете G418 в хранителната среда, за да достигнете крайна концентрация от 0,5 mg/ml

Seeding density 2 до 4 x 10⁴ клетки/cm²

Fluid renewal 2 до 3 пъти седмично

Клетки NRK-EGFP2-Nup50 | 500726

Freeze medium

Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикуробен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при $300 \times g$ в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

За оптимално прикрепване и жизнеспособност след размразяване препоръчваме да се използват **колби или плаки с колагеново покритие**.

Клетки NRK-EGFP2-Nup50 | 500726

Freezing Procedure

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196°C . Съхранението при -80°C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.