

Клетки NRK-Pom121-EGFP3 | 500669

Обща информация

Description

Клетъчната линия NRK-Pom121-EGFP3 е получена от нормални плъши бъбречни клетки (NRK) и е генетично разработена да експресира фюжън протеина Pom121-EGFP3. Pom121 е трансмембранен нуклеопорин, който е интегрален компонент на комплекса на ядрените пори (NPC), играещ решаваща роля в сглобяването на ядрената обвивка и функцията на NPC. Включването на таг на зелен флуоресцентен протеин (EGFP3) улеснява визуализацията и изследването на динамиката, локализацията и взаимодействията на Pom121 в живи клетки чрез флуоресцентна микроскопия. Това прави клетъчната линия NRK-Pom121-EGFP3 ценен инструмент за изследване на механизмите на ядрения транспорт и архитектурата на NPC.

Клетките NRK, родителската линия на NRK-Pom121-EGFP3, често се използват в различни изследователски приложения поради стабилните си характеристики на растеж и епителна морфология. Модификацията за експресия на Pom121-EGFP3 предоставя на изследователите надежден модел за изследване на молекулярните механизми, които са в основата на нуклеоцитоплазмения транспорт, структурната организация на NPC и регулирането ѝ по време на клетъчното делене и диференциация. Освен това тази клетъчна линия може да се използва за изследване на ефектите на различни генетични и фармакологични смущения върху функцията на NPC, което предлага поглед върху заболявания, свързани с дефекти в ядрения транспорт, като рак и невродегенеративни разстройства.

Като цяло, клетъчната линия NRK-Pom121-EGFP3 представлява усъвършенстван инструмент в клетъчната биология и молекулярните изследвания, осигуряващ прозрения с висока резолюция за динамичните процеси, управляващи ядреноцитоплазмените взаимодействия. Способността ѝ да позволява наблюдение в реално време на компонентите на НПК в жив клетъчен контекст я прави безценна за подобряване на разбирането ни за механизмите на клетъчния транспорт и тяхното значение за здравето и болестите.

Organism Плъх

Tissue Бъбреци

Synonyms NRK Pom121-EGFP3, NRK Pom121-3EGFP, NRK-Pom121-3EGFP

Характеристики

Breed/Subspecies OsborneMendel

Morphology Фибробластоподобни клетки с фузиформена форма

Growth properties Монослой, прилепнал

Регулаторни данни

Клетки NRK-Pom121-EGFP3 | 500669

Citation	NRK-Pom121-EGFP3 (каталожен номер 500669 на Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10116
CellosaurusAccession	CVCL_AV96
Depositor	Лабораторията на Елгънбърг (EMBL)

Биомолекулярни данни

Receptors expressed	Епидермален растежен фактор (EGF), стимулираща мултипликацията активност (MSA)
Protein expression	Pom121-EGFP3: Местоположение/ген: 1..589 / Pcmv, 653..4250 / Pom121, 4251..4287 / null, 4318..6546 / 3EGFP, 7780..8574 / KanR/NeoR
Products	Епидермален растежен фактор (EGF), мултипликационна стимулираща активност (MSA), POM121, трансмембранен, нуклеопорин, CMV Promotor, неомицин, фосфотрансфераза

Работа с

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L глюкоза, w: 4 mM L-глутамин, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , 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
Split ratio	Препоръчва се съотношение от 1:3 до 1:4
Seeding density	2 до 4 x 10 ⁴ клетки/cm ²

Клетки NRK-Pom121-EGFP3 | 500669**Fluid renewal** 2 до 3 пъти седмично**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°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 антиминобен агент с температура 37°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 x 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°C , 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.**Flask Coating**

Няма

Клетки NRK-Pom121-EGFP3 | 500669

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.

Профил на STR

Rat_D1Wox31: 96,1
Rat_D2Wox37: 156
Rat_D19Wox11: 220
Rat_D10Wox8: 266,27
Rat_D4Wox7: 153 157
Rat_D2Wox27: 211
Rat_D5Rat33: 116 138
Rat_D10Wox11: 156
Rat_D1Wox23: 210 214
Rat_D12Wox1: 402 406
Rat_D6Wox2: 104 124
Rat_D8Wox7: 185
Rat_D6Cebr1: 221 233
STR: x, Y