

Buňky NRK-EGFP2-Nup50 | 500726

Obecné informace

Description

Buněčná linie NRK-EGFP2-Nup50 je klonální stabilní buněčná linie odvozená z buněk normální ledviny potkana (NRK). Tato buněčná linie byla vytvořena transfekcí kruhového plazmidu obsahujícího gen kódující fúzní protein zesíleného zeleného fluorescenčního proteinu (EGFP) a nukleoporinu 50 (Nup50), po níž následovala selekce na rezistenci k léčivům. Výsledkem je, že přibližně 50 % buněk exprimuje fúzní protein EGFP3-Nup50, což umožňuje vizualizaci a sledování Nup50 v buněčném prostředí.

Nup50 je kritickou součástí komplexu jaderných pórů, který je zodpovědný za regulaci transportu molekul mezi jádrem a cytoplazmou. Značka EGFP3 umožňuje zobrazování živých buněk a další fluorescenční techniky ke studiu lokalizace, dynamiky a interakcí Nup50. Přestože se jedná o stabilní buněčnou linii, buňky NRK-EGFP2-Nup50 vykazují určitou variabilitu, což svědčí o proměnlivosti úrovně exprese fúzního proteinu EGFP3-Nup50 mezi buňkami.

Tato buněčná linie je zvláště cenná pro výzkum zaměřený na nukleocytoplazmatický transport, dynamiku komplexu jaderných pórů a funkční úlohu Nup50 v různých buněčných procesech. Buňky NRK-EGFP2-Nup50 jsou vhodné pro řadu experimentálních přístupů, včetně obnovy fluorescence po fotobleachingu (FRAP), fluorescenční korelační spektroskopie (FCS) a dalších pokročilých mikroskopických technik. Tyto studie mohou poskytnout vhled do molekulárních mechanismů jaderného transportu a přispět k pochopení nemocí spojených s poruchou jaderného transportu, jako jsou některé druhy rakoviny a neurodegenerativní poruchy.

Organism Krasy

Tissue Ledviny

Synonyms NRK EGFP2-Nup50

Charakteristika

Breed/Subspecies OsborneMendel

Morphology Fibroblastům podobné buňky s fusiformním tvarem

Growth properties Monovrstva, adherentní

Regulační údaje

Citation NRK-EGFP2-Nup50 (katalogové číslo Cytion 500726)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10116

Buňky NRK-EGFP2-Nup50 | 500726

CellosaurusAccession CVCL_AV93**Depositor** Ellenbergova laboratoř (EMBL)**Biomolekulární data****Receptors expressed** Epidermální růstový faktor (EGF), multiplikační stimulační aktivita (MSA)**Protein expression** EGFP3-Nup50**Products** NUP50 (nukleoporin 50)**Zpracování****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutaminu, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)**Supplements** Doplněte médium 10% FBS, 0,5 mg/ml G418**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Staré médium zlikvidujte a buňky promyjte PBS. Přidejte čerstvě připravený 0,025% roztok trypsinu/0,02% EDTA zahřátý na 37 °C a počkejte, dokud se buňky neoddělí, což obvykle trvá asi 5 minut. Neutralizujte trypsin přidáním čerstvého média, poté přeneste směs buněk do zkumavky a odstředte. Po odstředění odeberte supernatant, resuspendujte buněčnou peletu v čerstvém kultivačním médiu a suspenzi přeneste do nových baněk. Přidejte G418 do kultivačního média, abyste dosáhli konečné koncentrace 0,5 mg/ml**Split ratio** Doporučuje se poměr 1:3 až 1:4**Seeding density** 2 až 4 x 10⁴ buněk/cm²**Fluid renewal** 2 až 3krát týdně**Freeze medium** Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryem.

Buňky NRK-EGFP2-Nup50 | 500726

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmražená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstřeďte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žádný

Freezing Procedure

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Buňky NRK-EGFP2-Nup50 | 500726

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.