Product sheet

Κύτταρα NRK-EGFP2-Nup50 | 500726

Γενικές πληροφορίες

Description	Η κυτταρική σειρά NRK-EGFP2-Nup50 είναι μια κλωνική σταθερή κυτταρική σειρά που προέρχεται από κύτταρα φυσιολογικών νεφρών αρουραίου (NRK). Αυτή η κυτταρική σειρά δημιουργήθηκε μέσω της διαμόλυνσης ενός κυκλικού πλασμιδίου που περιέχει το γονίδιο που κωδικοποιεί την πρωτεΐνη σύντηξης της ενισχυμένης πράσινης φθορίζουσας πρωτεΐνης (EGFP) και της νουκλεοπορίνης 50 (Nup50), ακολουθούμενη από επιλογή ανθεκτικότητας στα φάρμακα. Ως αποτέλεσμα, περίπου το 50% των κυττάρων εκφράζουν την πρωτεΐνη σύντηξης EGFP3-Nup50, η οποία επιτρέπει την οπτικοποίηση και την παρακολούθηση της Nup50 εντός του κυτταρικού περιβάλλοντος. Η Nup50 είναι ένα κρίσιμο συστατικό του συμπλόκου του πυρηνικού πόρου, το οποίο είναι υπεύθυνο για τη ρύθμιση της μεταφοράς μορίων μεταξύ του πυρήνα και του κυτταροπλάσματος. Η ετικέτα EGFP3 επιτρέπει την απεικόνιση σε ζωντανό κύτταρο και άλλες τεχνικές που βασίζονται στον φθορισμό για τη μελέτη του εντοπισμού, της δυναμικής και των αλληλεπιδράσεων του Nup50. Παρά το γεγονός ότι πρόκειται για μια σταθερή κυτταρική σειρά, τα κύτταρα NRK-EGFP2-Nup50 παρουσιάζουν κάποια ποικιλομορφία, υποδεικνύοντας μεταβλητότητα στα επίπεδα έκφρασης της πρωτεΐνης σύντηξης EGFP3-Nup50 μεταξύ των κυττάρων. Αυτή η κυτταρική σειρά είναι ιδιαίτερα πολύτιμη για την έρευνα που επικεντρώνεται στην πυρηνοκυτταροπλασματική μεταφορά, τη δυναμική του συμπλέγματος των πυρηνικών πόρων και τον λειτουργικό ρόλο της Nup50 σε διάφορες κυτταρικές διεργασίες. Τα κύτταρα NRK-EGFP2-Nup50 είναι κατάλληλα για μια σειρά πειραματικών προσεγγίσεων, συμπεριλαμβανομένης της ανάκτησης φθορισμού μετά από φωτοβλάστηση (FRAP), της φασματοσκοπίας συσχέτισης φθορισμού (FCS) και άλλων προηγμένων τεχνικών μικροσκοπίας. Οι μελέτες αυτές μπορούν να παράσχουν πληροφορίες για τους μοριακούς μηχανισμούς της πυρηνικής μεταφοράς και να συμβάλουν στην κατανόηση ασθενειών που σχετίζονται με δυσλειτουργία της πυρηνικής μεταφοράς, όπως ορισμένοι καρκίνοι και νευροεκφυλιστικές διαταραχές.
Organism	Αρουραίος
Tissue	Νεφρός
Synonyms	NRK EGFP2-Nup50

Χαρακτηριστικά

Breed/Subspecies	OsborneMendel
Morphology	Κύτταρα που μοιάζουν με ινοβλάστες και έχουν φουσκοειδές σχήμα
Growth properties	Μονοστρωματική, προσκολλημένη

Ρυθμιστικά δεδομένα

Κύτταρα NRK-EGFP2-Nup50 | 500726

Citation	NRK-EGFP2-Nup50 (αριθμός καταλόγου Cytion 500726)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10116
CellosaurusAccession	CVCL_AV93
Depositor	Εργαστήριο Ellenberg (EMBL)

Βιομοριακά δεδομένα

Receptors expressed	Επιδερμικός αυξητικός παράγοντας (EGF), δραστηριότητα διέγερσης του πολλαπλασιασμού (MSA)
Protein expression	EGFP3-Nup50
Products	NUP50 (Νουκλεοπορίνη 50)

Χειρισμός

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L γλυκόζη, w: 4 mM L-γλουταμίνη, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM πυρουβικό νάτριο (αριθμός άρθρου Cytion 820300a)
Supplements	Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS, 0,5 mg/mL G418
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Απορρίψτε το παλιό μέσο και πλύνετε τα κύτταρα με PBS. Προσθέστε ένα φρεσκοπαρασκευασμένο διάλυμα θρυψίνης 0,025%/0,02% EDTA θερμαινόμενο στους 37 βαθμούς Κελσίου και περιμένετε μέχρι να αποκολληθούν τα κύτταρα, το οποίο συνήθως διαρκεί περίπου 5 λεπτά. Εξουδετερώστε τη θρυψίνη προσθέτοντας φρέσκο μέσο, στη συνέχεια μεταφέρετε το μείγμα κυττάρων σε ένα σωληνάριο και φυγοκεντρίστε. Μετά τη φυγοκέντρηση, αφαιρέστε το υπερκείμενο υγρό, ανασυσταθείτε το κυτταρικό σφαιρίδιο σε φρέσκο μέσο καλλιέργειας και μεταφέρετε το εναιώρημα σε νέες φιάλες. Ενσωματώστε το G418 στο μέσο καλλιέργειας ώστε να επιτευχθεί τελική συγκέντρωση 0,5 mg/ml
Seeding density	2 έως 4 x 10^4 κύτταρα/cm^2
Fluid renewal	2 έως 3 φορές την εβδομάδα

Κύτταρα NRK-EGFP2-Nup50 | 500726

Freeze medium	Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.

2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.

3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.

4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.

5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.

6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.

7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.

8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, υγροποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Για βέλτιστη προσκόλληση και βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, συνιστούμε τη χρήση **φιαλών ή πλακών με επικάλυψη κολλαγόνου**.

Κύτταρα NRK-EGFP2-Nup50 | 500726

Freezing Procedure	Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.
Shipping Conditions	Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.
Storage Conditions	Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

Sterility	Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια. Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.