

Κύτταρα NRK-Pom121-EGFP3 | 500669**Γενικές πληροφορίες****Description**

Η κυτταρική σειρά NRK-Pom121-EGFP3 προέρχεται από κύτταρα φυσιολογικών νεφρών αρουραίου (NRK) και είναι γενετικά τροποποιημένη ώστε να εκφράζει την πρωτεΐνη σύντηξης Pom121-EGFP3. Η Pom121 είναι μια διαμεμβρανική νουκλεοπορίνη που αποτελεί αναπόσπαστο συστατικό του συμπλόκου των πυρηνικών πόρων (NPC), διαδραματίζοντας κρίσιμο ρόλο στη συναρμολόγηση του πυρηνικού φακέλου και στη λειτουργία του NPC. Η ενσωμάτωση της ετικέτας ενισχυμένης πράσινης φθορίζουσας πρωτεΐνης (EGFP3) διευκολύνει την οπτικοποίηση και τη μελέτη της δυναμικής, του εντοπισμού και των αλληλεπιδράσεων της Pom121 εντός ζωντανών κυττάρων μέσω μικροσκοπίας φθορισμού. Αυτό καθιστά την κυτταρική σειρά NRK-Pom121-EGFP3 ένα πολύτιμο εργαλείο για τη διερεύνηση των μηχανισμών πυρηνικής μεταφοράς και της αρχιτεκτονικής του NPC.

Τα κύτταρα NRK, η γονική σειρά του NRK-Pom121-EGFP3, χρησιμοποιούνται συνήθως σε διάφορες ερευνητικές εφαρμογές λόγω των σταθερών χαρακτηριστικών ανάπτυξης και της επιθηλιακής μορφολογίας τους. Η τροποποίηση για την έκφραση του Pom121-EGFP3 παρέχει στους ερευνητές ένα ισχυρό μοντέλο για την εξέταση των μοριακών μηχανισμών που διέπουν την πυρηνοκυτταροπλασματική μεταφορά, τη δομική οργάνωση του NPC και τη ρύθμισή του κατά τη διάρκεια της κυτταρικής διαίρεσης και διαφοροποίησης. Επιπλέον, αυτή η κυτταρική σειρά μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη μελέτη των επιδράσεων διαφόρων γενετικών και φαρμακολογικών διαταραχών στη λειτουργία του NPC, προσφέροντας γνώσεις σχετικά με ασθένειες που σχετίζονται με ελαττώματα της πυρηνικής μεταφοράς, όπως ο καρκίνος και οι νευροεκφυλιστικές διαταραχές.

Συνολικά, η κυτταρική σειρά NRK-Pom121-EGFP3 αντιπροσωπεύει ένα εξελιγμένο εργαλείο στην κυτταρική βιολογία και τη μοριακή έρευνα, παρέχοντας υψηλής ανάλυσης γνώσεις σχετικά με τις δυναμικές διαδικασίες που διέπουν τις πυρηνοκυτταροπλασματικές αλληλεπιδράσεις. Η ικανότητά της να επιτρέπει την παρατήρηση σε πραγματικό χρόνο των συστατικών της NKK σε ζωντανό κυτταρικό περιβάλλον την καθιστά ανεκτίμητη για την προώθηση της κατανόησης των κυτταρικών μηχανισμών μεταφοράς και των επιπτώσεών τους στην υγεία και την ασθένεια.

Organism Αρουραίος

Tissue Νεφρός

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

Χαρακτηριστικά

Breed/Subspecies OsborneMendel

Morphology Κύτταρα που μοιάζουν με ινοβλάστες και έχουν φουσκοειδές σχήμα

Growth properties Μονοστρωματική, προσκολλημένη

Ρυθμιστικά δεδομένα

Κύτταρα NRK-Pom121-EGFP3 | 500669

Citation	NRK-Pom121-EGFP3 (αριθμός καταλόγου Cytion 500669)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10116
CellosaurusAccession	CVCL_AV96
Depositor	Εργαστήριο Ellenberg (EMBL)

Βιομοριακά δεδομένα

Receptors expressed	Επιδερμικός αυξητικός παράγοντας (EGF), δραστηριότητα διέγερσης του πολλαπλασιασμού (MSA)
Protein expression	Pom121-EGFP3: Τοποθεσία/γονίδιο: 1..589 / Pcmv, 653..4250 / Pom121, 4251..4287 / null, 4318..6546 / 3EGFP, 7780..8574 / KanR/NeoR
Products	Επιδερμικός αυξητικός παράγοντας (EGF), δραστηριότητα διέγερσης πολλαπλασιασμού (MSA), POM121, διαμεμβρανική, νουκλεοπορίνη, CMV Promotor, νεομυκίνη, φωσφοτρανσφεράση

Χειρισμός

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L γλυκόζη, w: 4 mM L-γλουταμίνη, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM πυρροβικό 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-Pom121-EGFP3 | 500669**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 $300 \times g$ 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% CO_2 , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

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

Κύτταρα NRK-Pom121-EGFP3 | 500669

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.