

NRK-Pom121-EGFP3 rakud | 500669

Üldine teave

Description

NRK-Pom121-EGFP3 rakuliin on saadud normaalsetest roti neerurakkudest (NRK) ja on geneetiliselt muundatud, et ekspresseerida Pom121-EGFP3 fusioonvalku. Pom121 on transmembraanne nukleoporiin, mis on tuumapoorikompleksi (NPC) lahutamatu osa, millel on oluline roll tuumakesta kokkupanekul ja NPC funktsioonis. Tugevdatud rohelise fluorestseeruva valguga (EGFP3) lisamine hõlbustab Pom121 dünaamika, lokaliseerimise ja interaktsioonide visualiseerimist ja uurimist elusrakus fluorestsentsmikroskoopia abil. See muudab NRK-Pom121-EGFP3 rakuliini väärtuslikuks vahendiks tuuma transpordimehhanismide ja NPC arhitektuuri uurimiseks.

NRK-Pom121-EGFP3 vanemliin NRK-Pom121-EGFP3 on tänu oma stabiilsetele kasvuomadustele ja epiteeli morfoloogiale üldkasutatav mitmesugustes teadusuuringutes. Pom121-EGFP3 ekspressiooni muutmine annab teadlastele tugeva mudeli, et uurida nukleotsütoplasma transpordi aluseks olevaid molekulaarmehhanisme, NPC struktuurilist korraldust ja selle regulatsiooni rakkude jagunemise ja diferentseerumise ajal. Lisaks saab seda rakuliini kasutada erinevate geneetiliste ja farmakoloogiliste häirete mõju uurimiseks NPC funktsioonile, mis annab ülevaate tuuma transpordi defektidega seotud haigustest, nagu vähk ja neurodegeneratiivsed häired.

Kokkuvõttes on NRK-Pom121-EGFP3 rakuliin keerukas vahend rakubioloogias ja molekulaaruuringutes, mis annab kõrge resolutsiooniga ülevaate dünaamilistest protsessidest, mis reguleerivad nukleotsütoplasma interaktsioone. Selle võime võimaldada NPC komponentide reaajas jälgimist elusraku kontekstis muudab selle asendamatuks, et edendada meie arusaamist rakutranspordi mehhanismidest ja nende mõjust tervisele ja haigustele.

Organism Rott

Tissue Neerud

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

Omadused

Breed/Subspecies OsborneMendel

Morphology Fibroblastitaolised fusiformse kujuga rakud

Growth properties Monokihiline, kleepuv

Regulatiivsed andmed

Citation NRK-Pom121-EGFP3 (Cytioni katalooginumber 500669)

Biosafety level 1

NRK-Pom121-EGFP3 rakud | 500669

NCBI_TaxID 10116**CellosaurusAccession** CVCL_AV96**Depositor** Ellenbergi labor (EMBL)**Biomolekulaarsed andmed****Receptors expressed** Epidermise kasvufaktor (EGF), paljunemist stimuleeriv toime (MSA)**Protein expression** Pom121-EGFP3: Asukoht/geen: 1..589 / Pcmv, 653..4250 / Pom121, 4251..4287 / null, 4318..6546 / 3EGFP, 7780..8574 / KanR/NeoR**Products** Epidermise kasvufaktor (EGF), paljunemist stimuleeriv aktiivsus (MSA), POM121, transmembraan, nukleoporiin, CMV promotor, neomütsiin, fosfotransferaas**Töötlemine****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glükoosi, w: 4 mM L-glutamiini, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM naatriumpüruvaati (Cytioni artikli number 820300a)**Supplements** Täiendada söötme 10% FBS, 0,5 mg/ml G418-ga**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Visake vana söötme ära ja peske rakud PBSiga. Lisage värskelt valmistatud 0,025% trüpsiini/0,02% EDTA lahust, mida on kuumutatud 37 kraadini, ja oodake, kuni rakud eralduvad, mis tavaliselt võtab umbes 5 minutit. Neutraliseerige trüpsiin, lisades värsket keskkonda, seejärel viige rakusegu katseklaasi ja tsentrifuugige. Pärast tsentrifuugimist eemaldage supernatant, resuspendeerige rakupellet värskes söötmes ja viige suspensioon uutesse kolvidesse. Lisage G418 kultuurikeskkonda, et saavutada lõppkontsentratsioon 0,5 mg/ml**Seeding density** 2 kuni 4×10^4 rakku/cm²**Fluid renewal** 2 kuni 3 korda nädalas**Freeze medium** Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumbriga 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

NRK-Pom121-EGFP3 rakud | 500669

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötmekekkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Optimaalse kinnitumise ja elujõulisuse tagamiseks pärast sulatamist soovitame kasutada **kollageeniga kaetud koldeid või plaate**.

Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

NRK-Pom121-EGFP3 rakud | 500669

**Storage
Conditions**

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.