

NRK-EGFP2-Nup50-solut | 500726

Yleisiä tietoja

Description

NRK-EGFP2-Nup50-solulinja on normaaleista rotan munuaissoluista (NRK) peräisin oleva vakaa klooninen solulinja. Tämä solulinja on tuotettu transfektoimalla ympyrämuotoinen plasmidi, joka sisältää tehostetun vihreän fluoresoivan proteiinin (EGFP) ja nukleoporiin 50:n (Nup50) fuusioproteiinia koodaavan geenin, minkä jälkeen on tehty lääkeresistenssivalinta. Tämän seurauksena noin 50 prosenttia soluista ilmentää EGFP3-Nup50-fuusioproteiinia, mikä mahdollistaa Nup50:n visualisoinnin ja seurannan solu ympäristössä.

Nup50 on kriittinen komponentti ydinhuokoskompleksissa, joka on vastuussa molekyylien kuljetuksen säätelystä tuman ja sytoplasman välillä. EGFP3-tunniste mahdollistaa elävässä solussa tapahtuvan kuvantamisen ja muut fluoresenssiin perustuvat tekniikat Nup50:n lokalisoinnin, dynamiikan ja vuorovaikutusten tutkimiseksi. Vaikka NRK-EGFP2-Nup50-solut ovat vakaa solulinja, niissä on jonkin verran vaihtelua, mikä viittaa EGFP3-Nup50-fuusioproteiinin ilmentymistasojen vaihteluun solujen välillä.

Tämä solulinja on erityisen arvokas tutkimuksessa, jossa keskitytään nukleosytoplasmiseen kuljetukseen, ydinhuokoskompleksin dynamiikkaan ja Nup50:n toiminnalliseen rooliin eri soluprosesseissa. NRK-EGFP2-Nup50-solut soveltuvat erilaisiin kokeellisiin lähestymistapoihin, kuten fluoresenssin palautumiseen valohäviämisen jälkeen (FRAP), fluoresenssikorrelaatiopektroskopiaan (FCS) ja muihin kehittyneisiin mikroskopiitekniikoihin. Näillä tutkimuksilla voidaan saada tietoa ydinkuljetuksen molekyylimekanismeista ja edistää ydinkuljetuksen toimintahäiriöihin liittyvien sairauksien, kuten tiettyjen syöpien ja hermoston rappeutumishäiriöiden, ymmärtämistä.

Organism Rotta

Tissue Munuaiset

Synonyms NRK EGFP2-Nup50

Ominaisuudet

Breed/Subspecies OsborneMendel

Morphology Fibroblastin kaltaiset solut, joilla on fusiforminen muoto

Growth properties Yksikerroksinen, tarttuva

Säätelytiedot

Citation NRK-EGFP2-Nup50 (Cytionin luettelonumero 500726)

Biosafety level 1

NRK-EGFP2-Nup50-solut | 500726

NCBI_TaxID 10116**CellosaurusAccession** CVCL_AV93**Depositor** Ellenbergin laboratorio (EMBL)**Biomolekyylitiedot****Receptors expressed** Epiderminen kasvutekijä (EGF), lisääntymistä stimuloiva aktiivisuus (MSA)**Protein expression** EGFP3-Nup50**Products** NUP50 (Nukleoporiin 50)**Käsittely****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukoosia, w: 4 mM L-glutamiinia, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM natriumpyruvaattia (Cytionin artikkelinumero 820300a)**Supplements** Täydennetään elatusainetta 10 % FBS:llä, 0,5 mg/ml G418:lla**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Hävitä vanha väliaine ja pese solut PBS:llä. Lisätään tuore 0,025-prosenttinen trypsiini/0,02-prosenttinen EDTA-liuos, joka on lämmitetty 37 celsiusasteeseen, ja odotetaan, kunnes solut irtoavat, mikä kestää yleensä noin 5 minuuttia. Neutraloi trypsiini lisäämällä tuoretta elatusainetta, siirrä soluseos putkeen ja sentrifugoi. Sentrifugoinnin jälkeen poista supernatantti, suspendoi solupelletti uudelleen tuoreessa kasvatusmediassa ja siirrä suspensio uusiin pulloihin. Lisää G418:a elatusaineeseen, jotta saavutetaan 0,5 mg/ml:n lopullinen pitoisuus**Split ratio** Suositeltava suhde on 1:3–1:4**Seeding density** 2–4 x 10⁴ solua/cm²**Fluid renewal** 2-3 kertaa viikossa

NRK-EGFP2-Nup50-solut | 500726

Freeze medium

Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Ei mitään

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

NRK-EGFP2-Nup50-solut | 500726

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäissä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Storage Conditions

Pitkäaikaisäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.