

NRK-Pom121-EGFP3-solut | 500669

Yleisiä tietoja

Description

NRK-Pom121-EGFP3-solulinja on peräisin normaaleista rotan munuaissoluista (NRK), ja se on geneettisesti muunnettu ilmentämään Pom121-EGFP3-fuusioproteiinia. Pom121 on transmembraaninen nukleoporiini, joka on ydinhuokoskompleksin (NPC) olennainen osa ja jolla on ratkaiseva rooli ydinkuoren kokoamisessa ja NPC:n toiminnassa. Tehostetun vihreän fluoroisoivan proteiinin (EGFP3) tagin sisällyttäminen helpottaa Pom121:n dynamiikan, lokalisoinnin ja vuorovaikutusten visualisointia ja tutkimista elävissä soluissa fluoresenssimikroskopian avulla. Tämä tekee NRK-Pom121-EGFP3-solulinjasta arvokkaan välineen ydinkuljetusmekanismien ja NPC-arkkitehtuurin tutkimiseen.

NRK-Pom121-EGFP3-solulinjan vanhempien NRK-soluja käytetään yleisesti erilaisissa tutkimussovelluksissa niiden vakaiden kasvuominaisuuksien ja epiteelimorfologian vuoksi. Pom121-EGFP3:n ilmentämiseen tehty muunnos tarjoaa tutkijoille vankan mallin, jonka avulla voidaan tutkia nukleosyttoplasmisen kuljetuksen taustalla olevia molekyylimekanismeja, NPC:n rakenteellista organisaatiota ja sen säätelyä solun jakautumisen ja erilaistumisen aikana. Lisäksi tätä solulinjaa voidaan käyttää erilaisten geneettisten ja farmakologisten häiriöiden vaikutusten tutkimiseen NPC:n toimintaan, mikä tarjoaa tietoa sairauksista, jotka liittyvät ydinkuljetusvirheisiin, kuten syöpään ja neurodegeneratiivisiin häiriöihin.

Kaiken kaikkiaan NRK-Pom121-EGFP3-solulinja edustaa kehittyntä solubiologian ja molekyylitutkimuksen välinettä, joka tarjoaa korkean resoluution näkemyksiä dynaamisista prosesseista, jotka ohjaavat nukleosyttoplasmisen vuorovaikutusta. Sen kyky mahdollistaa NPC-komponenttien reaaliaikainen havainnointi elävässä solukontekstissa tekee siitä korvaamattoman arvokkaan, kun pyritään edistämään ymmärrystä solujen kuljetusmekanismeista ja niiden vaikutuksista terveyteen ja sairauksiin.

Organism Rotta

Tissue Munuaiset

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

Ominaisuudet

Breed/Subspecies OsborneMendel

Morphology Fibroblastin kaltaiset solut, joilla on fusiforminen muoto

Growth properties Yksikerroksinen, tarttuva

Säätelytiedot

Citation NRK-Pom121-EGFP3 (Cytionin luettelonumero 500669)

NRK-Pom121-EGFP3-solut | 500669

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 10116**CellosaurusAccession** CVCL_AV96**Depositor** Ellenbergin laboratorio (EMBL)**Biomolekyylitiedot****Receptors expressed** Epiderminen kasvutekijä (EGF), lisääntymistä stimuloiva aktiivisuus (MSA)**Protein expression** Pom121-EGFP3: Sijainti/geeni: 1..589 / Pcmv, 653..4250 / Pom121, 4251..4287 / null, 4318..6546 / 3EGFP, 7780..8574 / KanR/NeoR**Products** Epidermaalinen kasvutekijä (EGF), lisääntymistä stimuloiva aktiivisuus (MSA), POM121, Transmembraani, nukleoporiini, CMV-promoottori, neomysiini, fosfotransferaasi**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**Seeding density** 2-4 x 10⁴ solua/cm²**Fluid renewal** 2-3 kertaa viikossa

NRK-Pom121-EGFP3-solut | 500669

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 $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se $37\text{ }^{\circ}\text{C}$: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

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Optimaalisen kiinnittymisen ja elinkelpoisuuden saavuttamiseksi sulatuksen jälkeen suosittelemme **kollageenipinnoitettujen pullojen tai levyjen** käyttöä.

NRK-Pom121-EGFP3-solut | 500669

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä 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.

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä 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

Pitkäaikaissäilytystä 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

Mykoplasmaakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

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