

NRK-EGFP2-Nup50 sejtek | 500726

Általános információk

Description

Az NRK-EGFP2-Nup50 sejtvonal egy normális patkányese (NRK) sejtekből származó stabil klonális sejtvonal. Ezt a sejtvonalat az Enhanced Green Fluorescent Protein (EGFP) és a Nucleoporin 50 (Nup50) fúziós fehérjét kódoló gént tartalmazó cirkuláris plazmid transzfekciójával, majd gyógyszerrezisztencia-szelekcióval hozták létre. Ennek eredményeként a sejtek körülbelül 50%-a expresszálja az EGFP3-Nup50 fúziós fehérjét, ami lehetővé teszi a Nup50 láthatóvá tételét és nyomon követését a sejt környezetben.

A Nup50 a nukleáris pórus komplex kritikus összetevője, amely a sejtmag és a citoplazma közötti molekulák szállításának szabályozásáért felelős. Az EGFP3 tag lehetővé teszi az élő sejtek képalkotását és más fluoreszcencia-alapú technikákat a Nup50 lokalizációjának, dinamikájának és kölcsönhatásainak tanulmányozására. Annak ellenére, hogy az NRK-EGFP2-Nup50 sejtek stabil sejtvonalnak számítanak, némi variegációt mutatnak, ami az EGFP3-Nup50 fúziós fehérje expressziós szintjének változékonyságára utal a sejtek között.

Ez a sejtvonal különösen értékes a nukleocitoplazmatikus transzporttal, a nukleáris pórus komplex dinamikájával és a Nup50 különböző sejt folyamatokban betöltött funkcionális szerepével foglalkozó kutatások számára. Az NRK-EGFP2-Nup50 sejtek számos kísérleti megközelítésre alkalmasak, beleértve a fluoreszcencia fotobleaching utáni helyreállítást (FRAP), a fluoreszcencia korrelációs spektroszkópiát (FCS) és más fejlett mikroszkópiai technikákat. Ezek a vizsgálatok betekintést nyújthatnak a nukleáris transzport molekuláris mechanizmusába, és hozzájárulhatnak a nukleáris transzport diszfunkciójával összefüggő betegségek, például egyes rákos megbetegedések és neurodegeneratív rendellenességek megértéséhez.

Organism Patkány

Tissue Vese

Synonyms NRK EGFP2-Nup50

Jellemzők

Breed/Subspecies OsborneMendel

Morphology Fibroblaszt-szerű, fusiform alakú sejtek

Growth properties Monoréteg, tapadó

Szabályozási adatok

Citation NRK-EGFP2-Nup50 (Cytion katalógusszám: 500726)

Biosafety level 1

NRK-EGFP2-Nup50 sejtek | 500726

NCBI_TaxID 10116**CellosaurusAccession** CVCL_AV93**Depositor** Az Ellenberg Labor (EMBL)**Biomolekuláris adatok****Receptors expressed** Epidermális növekedési faktor (EGF), szaporodást serkentő aktivitás (MSA)**Protein expression** EGFP3-Nup50**Products** NUP50 (Nucleoporin 50)**A kezelése****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glükóz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM nátrium-piruvát (Cytion cikkszám 820300a)**Supplements** A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel, 0,5 mg/ml G418-zal**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Dobja ki a régi tápfolyadékot, és mossa ki a sejteket PBS-szel. Adjunk hozzá frissen készített 0,025%-os tripszin/0,02%-os EDTA oldatot 37 Celsius-fokra melegítve, és várjuk meg, amíg a sejtek leválnak, ami általában körülbelül 5 percig tart. Semlegesítse a tripszint friss tápfolyadék hozzáadásával, majd helyezze át a sejtkeveréket egy csőbe és centrifugálja. A centrifugálás után távolítsa el a felülúszót, reszuszpendálja a sejtpelletet friss táptalajban, és a szuszpenziót helyezze át új lombikba. Adjunk a táptalajhoz G418-at, hogy 0,5 mg/ml végkoncentrációt érjünk el**Split ratio** 1:3 és 1:4 közötti arányt javasolunk**Seeding density** 2–4 x 10⁴ sejt/cm²**Fluid renewal** hetente 2-3 alkalommal

NRK-EGFP2-Nup50 sejtek | 500726

Freeze medium

Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a krioüveget 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtszuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejtvonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

Nincs

Freezing Procedure

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

NRK-EGFP2-Nup50 sejtek | 500726

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejtvonalatokat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ közötti hőmérsékleten. A $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.