

NRK-Pom121-EGFP3 sejtek | 500669

Általános információk

Description

Az NRK-Pom121-EGFP3 sejt vonal normál patkányvese (NRK) sejtekből származik, és genetikailag úgy alakították ki, hogy a Pom121-EGFP3 fúziós fehérjét expresszálja. A Pom121 egy transzmembrán nukleoporin, amely a nukleáris póruskomplex (NPC) integráns összetevője, és döntő szerepet játszik a magburkolat összeszerelésében és az NPC működésében. A fokozott zöld fluoreszcens fehérje (EGFP3) tag beillesztése megkönnyíti a Pom121 dinamikájának, lokalizációjának és interakcióinak láthatóvá tételét és tanulmányozását élő sejteken belül fluoreszcens mikroszkópia segítségével. Ezáltal az NRK-Pom121-EGFP3 sejt vonal értékes eszközzé válik a nukleáris transzportmechanizmusok és az NPC architektúra vizsgálatához.

Az NRK-Pom121-EGFP3 szülői vonalát, az NRK-Pom121-EGFP3 sejteket stabil növekedési jellemzők és epiteliális morfológiájuk miatt gyakran használják különböző kutatási alkalmazásokban. A Pom121-EGFP3 expresszáására történő módosítás robusztus modellt biztosít a kutatók számára a nukleocitoplazmatikus transzport alapjául szolgáló molekuláris mechanizmusok, az NPC strukturális szerveződése, valamint a sejtosztódás és differenciálódás során történő szabályozásának vizsgálatához. Emellett ez a sejt vonal felhasználható a különböző genetikai és farmakológiai perturbációk NPC funkcióra gyakorolt hatásának tanulmányozására, betekintést nyújtva a nukleáris transzport hibáival összefüggő betegségekbe, mint például a rák és a neurodegeneratív rendellenességek.

Összességében az NRK-Pom121-EGFP3 sejt vonal a sejtbiológia és a molekuláris kutatás kifinomult eszköze, amely nagy felbontású betekintést nyújt a nukleocitoplazmatikus kölcsönhatásokat szabályozó dinamikus folyamatokba. Az a képessége, hogy lehetővé teszi az NPC komponensek valós idejű megfigyelését élő sejt környezetben, felbecsülhetlenné teszi a sejtek transzportmechanizmusainak és azok egészségre és betegségekre gyakorolt hatásának megértésében.

Organism Patkány

Tissue Vese

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

Jellemzők

Breed/Subspecies OsborneMendel

Morphology Fibroblaszt-szerű, fusiform alakú sejtek

Growth properties Monoréteg, tapadó

Szabályozási adatok

Citation NRK-Pom121-EGFP3 (Cytion katalógusszám: 500669)

NRK-Pom121-EGFP3 sejtek | 500669

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10116
CellosaurusAccession	CVCL_AV96
Depositor	Az Ellenberg Labor (EMBL)

Biomolekuláris adatok

Receptors expressed	Epidermális növekedési faktor (EGF), szaporodást serkentő aktivitás (MSA)
Protein expression	Pom121-EGFP3: Hely/gén: 1..589 / Pcmv, 653..4250 / Pom121, 4251..4287 / null, 4318..6546 / 3EGFP, 7780..8574 / KanR/NeoR
Products	Epidermális növekedési faktor (EGF), szaporodást serkentő aktivitás (MSA), POM121, transzmembrán, nukleoporin, CMV promotor, neomicin, foszfortranszferáz

A kezelése

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glükóz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , 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
---------------------	--

Seeding density	2-4 x 10 ⁴ sejt/cm ²
------------------------	--

Fluid renewal	hetente 2-3 alkalommal
----------------------	------------------------

NRK-Pom121-EGFP3 sejtek | 500669

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 krioümlékét 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 sejt kölcsönhatás 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

A felolvasztás utáni optimális kötődés és életképesség érdekében **kollagénnel bevont lombikok vagy lemezek** használatát javasoljuk.

NRK-Pom121-EGFP3 sejtek | 500669

Freezing Procedure

A kriokonzervált sejt vonalakat 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.

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejt vonalakat 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.