

Sel NRK-EGFP2-Nup50 | 500726

Informasi umum

Description

Garis sel NRK-EGFP2-Nup50 adalah garis sel stabil klonal yang berasal dari sel ginjal tikus normal (NRK). Garis sel ini dihasilkan melalui transfeksi plasmid melingkar yang mengandung gen yang mengkode protein fusi Enhanced Green Fluorescent Protein (EGFP) dan Nucleoporin 50 (Nup50), diikuti dengan seleksi resistensi obat. Hasilnya, sekitar 50% sel mengekspresikan protein fusi EGFP3-Nup50, yang memungkinkan visualisasi dan pelacakan Nup50 di dalam lingkungan sel.

Nup50 adalah komponen penting dari kompleks pori nuklir, yang bertanggung jawab untuk mengatur pengangkutan molekul antara nukleus dan sitoplasma. Tag EGFP3 memungkinkan pencitraan sel hidup dan teknik berbasis fluoresensi lainnya untuk mempelajari lokalisasi, dinamika, dan interaksi Nup50. Meskipun merupakan garis sel yang stabil, sel NRK-EGFP2-Nup50 menunjukkan beberapa variasi, yang menunjukkan variabilitas dalam tingkat ekspresi protein fusi EGFP3-Nup50 di antara sel-sel.

Garis sel ini sangat berharga untuk penelitian yang berfokus pada transpor nukleositoplasma, dinamika kompleks pori nuklir, dan peran fungsional Nup50 dalam berbagai proses seluler. Sel NRK-EGFP2-Nup50 cocok untuk berbagai pendekatan eksperimental, termasuk pemulihan fluoresensi setelah pemutihan foto (FRAP), spektroskopi korelasi fluoresensi (FCS), dan teknik mikroskop canggih lainnya. Studi-studi ini dapat memberikan wawasan tentang mekanisme molekuler transpor nuklir dan berkontribusi pada pemahaman penyakit yang terkait dengan disfungsi transpor nuklir, seperti kanker tertentu dan gangguan neurodegeneratif.

Organism Tikus

Tissue Ginjal

Synonyms NRK EGFP2-Nup50

Karakteristik

Breed/Subspecies OsborneMendel

Morphology Sel mirip fibroblas dengan bentuk fusiform

Growth properties Monolayer, patuh

Data Peraturan

Citation NRK-EGFP2-Nup50 (Nomor katalog Cytion 500726)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10116

Sel NRK-EGFP2-Nup50 | 500726

CellosaurusAccession CVCL_AV93**Depositor** Laboratorium Ellenberg (Ellenberg Lab) (EMBL)**Data Biomolekuler****Receptors expressed** Faktor pertumbuhan epidermal (EGF), aktivitas stimulasi multiplikasi (MSA)**Protein expression** EGFP3-Nup50**Products** NUP50 (Nucleoporin 50)**Penanganan****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L Glukosa, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM Natrium piruvat (Nomor artikel Cytion 820300a)**Supplements** Tambahkan media dengan 10% FBS, 0,5 mg/mL G418**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Buang media lama dan cuci sel dengan PBS. Tambahkan larutan tripsin 0,025% / 0,02% EDTA yang baru disiapkan yang dipanaskan hingga 37 derajat Celcius dan tunggu hingga sel terlepas, yang biasanya membutuhkan waktu sekitar 5 menit. Netralkan tripsin dengan menambahkan medium segar, lalu pindahkan campuran sel ke dalam tabung dan sentrifugasi. Setelah sentrifugasi, keluarkan supernatan, resuspensi pelet sel dalam media kultur segar, dan pindahkan suspensi ke labu baru. Masukkan G418 ke dalam media kultur untuk mencapai konsentrasi akhir 0,5 mg / ml**Split ratio** Disarankan untuk menggunakan perbandingan 1:3 hingga 1:4**Seeding density** 2 hingga 4×10^4 sel/cm²**Fluid renewal** 2 hingga 3 kali per minggu**Freeze medium** Sebagai media kriopreservasi, kami menggunakan media pertumbuhan lengkap (termasuk FBS) + 10% DMSO untuk viabilitas pasca-pencairan yang memadai, atau CM-1 (nomor katalog Cytion 800100), yang mencakup osmoprotektan yang dioptimalkan dan penstabil metabolisme untuk meningkatkan pemulihan dan mengurangi stres yang diinduksi kriopreservasi.

Sel NRK-EGFP2-Nup50 | 500726

Thawing and Culturing Cells

1. Pastikan botol tetap dalam keadaan beku pada saat pengiriman, karena sel dikirim dengan es kering untuk mempertahankan suhu optimal selama perjalanan.
2. Setelah diterima, segera simpan cryovial pada suhu di bawah -150°C untuk memastikan pelestarian integritas sel, atau lanjutkan ke langkah 3 jika kultur segera diperlukan.
3. Untuk kultur segera, segera cairkan botol dengan merendamnya dalam penangas air bersuhu 37°C dengan air bersih dan agen antimikroba, aduk perlahan selama 40-60 detik hingga gumpalan es kecil tetap ada.
4. Lakukan semua langkah selanjutnya dalam kondisi steril di dalam tudung alir, desinfektan kriovial dengan etanol 70% sebelum dibuka.
5. Buka botol yang telah didesinfeksi dengan hati-hati dan pindahkan suspensi sel ke dalam tabung sentrifugasi 15 ml yang berisi 8 ml media kultur suhu kamar, aduk perlahan.
6. Sentrifus campuran pada 300 x g selama 3 menit untuk memisahkan sel dan dengan hati-hati membuang supernatan yang mengandung sisa media pembekuan.
7. Resuspensi pelet sel dengan hati-hati dalam 10 ml medium kultur segar. Untuk sel yang melekat, bagi suspensi di antara dua labu kultur T25; untuk kultur suspensi, pindahkan semua media ke dalam satu labu T25 untuk mendorong interaksi dan pertumbuhan sel yang efektif.
8. Patuhi protokol subkultur yang telah ditetapkan untuk pertumbuhan dan pemeliharaan garis sel yang berkelanjutan, memastikan hasil eksperimental yang andal.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfer yang dilembapkan.

Flask Coating

Tidak ada

Freezing Procedure

Lini sel kriopreservasi dikirim di atas es kering dalam kemasan terisolasi yang divalidasi dengan refrigeran yang cukup untuk mempertahankan suhu sekitar -78°C selama perjalanan. Setelah diterima, segera periksa wadah dan pindahkan botol tanpa penundaan ke tempat penyimpanan yang sesuai.

Shipping Conditions

Lini sel kriopreservasi dikirim di atas es kering dalam kemasan terisolasi yang divalidasi dengan refrigeran yang cukup untuk mempertahankan suhu sekitar -78°C selama perjalanan. Setelah diterima, segera periksa wadah dan pindahkan botol tanpa penundaan ke tempat penyimpanan yang sesuai.

Sel NRK-EGFP2-Nup50 | 500726

Storage Conditions

Untuk pengawetan jangka panjang, tempatkan botol dalam nitrogen cair fase uap pada suhu sekitar -150 hingga -196 °C. Penyimpanan pada suhu -80 °C hanya dapat diterima sebagai langkah sementara sebelum dipindahkan ke nitrogen cair.

Kontrol kualitas / Profil genetik / HLA

Sterility

Kontaminasi mikoplasma disingkirkan dengan menggunakan tes berbasis PCR dan metode deteksi mikoplasma berbasis pendaran.

Untuk memastikan tidak ada kontaminasi bakteri, jamur, atau ragi, kultur sel menjalani inspeksi visual setiap hari.