

NRK-EGFP2-Nup50 ląstelės | 500726

Bendra informacija

Description

NRK-EGFP2-Nup50 ląstelių linija yra kloninė stabili ląstelių linija, gauta iš normalių žiurkių inkstų (NRK) ląstelių. Ši ląstelių linija buvo sukurta transfekcijos būdu, naudojant žiedinę plazmidę, kurioje yra genas, koduojantis sustiprinto žaliojo fluorescencinio baltymo (EGFP) ir nukleoporino 50 (Nup50) sintezės baltymą, o po to atrenkant atsparumą vaistams. Dėl to maždaug 50 % ląstelių ekspresuoja EGFP3-Nup50 sintezės baltymą, kuris leidžia vizualizuoti ir sekti Nup50 ląstelės aplinkoje.

Nup50 yra labai svarbi branduolio porų komplekso sudedamoji dalis, atsakinga už molekulių pernešimą tarp branduolio ir citoplazmos. Naudojant EGFP3 žymę galima atlikti gyvų ląstelių vaizdavimą ir kitus fluorescencija pagrįstus metodus Nup50 lokalizacijai, dinamikai ir sąveikai tirti. Nepaisant to, kad NRK-EGFP2-Nup50 ląstelės yra stabili ląstelių linija, jos šiek tiek varijuoja, o tai rodo, kad EGFP3-Nup50 sintezės baltymo raiškos lygis ląstelėse yra nevienodas.

Ši ląstelių linija ypač vertinga atliekant tyrimus, susijusius su nukleocitoplazminiu pernešimu, branduolio porų komplekso dinamika ir funkcinio Nup50 vaidmeniu įvairiuose ląstelės procesuose. NRK-EGFP2-Nup50 ląstelės tinka įvairiems eksperimentiniams metodams, įskaitant fluorescencijos atkūrimą po fotobleachingo (FRAP), fluorescencijos koreliacinę spektroskopiją (FCS) ir kitus pažangius mikroskopijos metodus. Šie tyrimai gali padėti suprasti molekulinį branduolio pernašos mechanizmus ir padėti suprasti ligas, susijusias su branduolio pernašos disfunkcija, pavyzdžiui, tam tikras vėžines ligas ir neurodegeneracinius sutrikimus.

Organism Žiurkės

Tissue Inkstai

Synonyms NRK EGFP2-Nup50

Charakteristikos

Breed/Subspecies OsborneMendel

Morphology | fibroblastus panašios ląstelės, kurių forma yra susiliejanči

Growth properties Viensluoksnis, prigludęs

Reguliavimo duomenys

Citation NRK-EGFP2-Nup50 (Cytion katalogo numeris 500726)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10116

NRK-EGFP2-Nup50 ląstelės | 500726

CellosaurusAccession CVCL_AV93**Depositor** Ellenbergo laboratorija (EMBL)**Biomolekuliniai duomenys****Receptors expressed** Epidermio augimo veiksnys (EGF), dauginimąsi skatinantis aktyvumas (MSA)**Protein expression** EGFP3-Nup50**Products** NUP50 (nukleoporinas 50)**Tvarkymas****Culture Medium** DMEM, š: 4,5 g/l gliukozės, š: 4 mM L-glutamino, š: 3,7 g/l NaHCO₃, š: 1,0 mM natrio piruvato (Cytion gaminio numeris 820300a)**Supplements** Papildykite terpę 10 % FBS, 0,5 mg/ml G418**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Išmeskite seną terpę ir nuplaukite ląsteles PBS. Įpilkite šviežiai paruošto 0,025 % tripsino/0,02 % EDTA tirpalo, pašildyto iki 37 °C temperatūros, ir palaukite, kol ląstelės atsiskirs (paprastai tai trunka apie 5 minutes). Neutralizuokite tripsiną, įpilkite šviežios terpės, tada perkelti ląstelių mišinį į mėgintuvėlį ir centrifuguokite. Po centrifugavimo pašalinkite supernatantą, ląstelių granules vėl sutirpinkite šviežioje terpėje ir perpilkite suspensiją į naujas kolbas. Įmaišykite G418 į mitybinę terpę, kad galutinė koncentracija būtų 0,5 mg/ml**Split ratio** Rekomenduojamas santykis nuo 1:3 iki 1:4**Seeding density** 2–4 x 10⁴ ląstelės/cm²**Fluid renewal** 2-3 kartus per savaitę**Freeze medium** Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

NRK-EGFP2-Nup50 ląstelės | 500726

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Nėra

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

NRK-EGFP2-Nup50 ląstelės | 500726

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystą azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.