

NRK-Pom121-EGFP3 ląstelės | 500669

Bendra informacija

Description

NRK-Pom121-EGFP3 ląstelių linija gaunama iš normalių žiurkių inkstų (NRK) ląstelių ir yra genetiškai sukurta taip, kad ekspresuotų Pom121-EGFP3 sintezės baltymą. Pom121 yra transmembrinis nukleoporinas, neatskiriama branduolio porų komplekso (NPC) sudedamoji dalis, atliekanti svarbų vaidmenį branduolio apvalkalo surinkime ir NPC veikloje. Pridėjus sustiprinto žaliojo fluorescencinio baltymo (EGFP3) žymę, lengviau vizualizuoti ir tirti Pom121 dinamiką, lokalizaciją ir sąveiką gyvoje ląstelėje naudojant fluorescencinę mikroskopiją. Dėl to NRK-Pom121-EGFP3 ląstelių linija tampa vertinga priemone tiriant branduolinio pernešimo mechanizmus ir NPC struktūrą.

NRK ląstelės, NRK-Pom121-EGFP3 tėvinė linija, dėl savo stabilių augimo savybių ir epitelio morfologijos dažnai naudojamos įvairiuose tyrimuose. Modifikacija, leidžianti išreikšti Pom121-EGFP3, suteikia mokslininkams patikimą modelį, leidžiantį tirti molekulinis mechanizmus, lemiančius nukleocitoplazmos pernešimą, struktūrinę NPC organizaciją ir jos reguliavimą ląstelių dalijimosi ir diferenciacijos metu. Be to, šią ląstelių liniją galima naudoti tiriant įvairių genetinių ir farmakologinių trikdžių poveikį NPC funkcijai, todėl galima ištyti ligų, susijusių su branduolio transportavimo defektais, pavyzdžiui, vėžio ir neurodegeneracinių sutrikimų, pasekmes.

Apskritai NRK-Pom121-EGFP3 ląstelių linija yra sudėtingas ląstelių biologijos ir molekulinis tyrimų įrankis, suteikiantis didelės skiriamosios gebos įžvalgų apie dinamiškus procesus, lemiančius nukleocitoplazmos sąveiką. Jos gebėjimas realiuoju laiku stebėti NKP komponentus gyvų ląstelių kontekste daro ją neįkainojamą, nes ji padeda geriau suprasti ląstelinio pernešimo mechanizmus ir jų reikšmę sveikatai ir ligoms.

Organism Žiurkės

Tissue Inkstai

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

Charakteristikos

Breed/Subspecies OsborneMendel

Morphology | fibroblastus panašios ląstelės, kurių forma yra susiliejanči

Growth properties Viensluoksnis, prigludęs

Reguliavimo duomenys

Citation NRK-Pom121-EGFP3 (Cytion katalogo numeris 500669)

Biosafety level 1

NRK-Pom121-EGFP3 ląstelės | 500669

NCBI_TaxID 10116

CellosaurusAccession CVCL_AV96

Depositor Ellenbergo laboratorija (EMBL)

Biomolekuliniai duomenys

Receptors expressed Epidermio augimo veiksnys (EGF), dauginimąsi skatinantis aktyvumas (MSA)**Protein expression** Pom121-EGFP3: Vieta/genas: 1..589 / Pcmv, 653..4250 / Pom121, 4251..4287 / null, 4318..6546 / 3EGFP, 7780..8574 / KanR/NeoR**Products** Epidermio augimo faktorius (EGF), dauginimąsi skatinantis aktyvumas (MSA), POM121, transmembraninis, nukleoporinas, CMV promotorius, neomicinas, fosfotransferazė

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**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-Pom121-EGFP3 ląstelės | 500669

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 perkelkite 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

Kad po atšildymo būtų užtikrintas optimalus prisitvirtinimas ir gyvybingumas, rekomenduojame naudoti **kolagenu dengtas kolbas arba plokšteles**.

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 perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

NRK-Pom121-EGFP3 ląstelės | 500669

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 perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

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.