

NRK-Pom121-EGFP3 šūnas | 500669

Vispārīga informācija

Description

NRK-Pom121-EGFP3 šūnu līnija ir iegūta no normālām žurku nieru (NRK) šūnām un ir ģenētiski veidota, lai ekspresētu Pom121-EGFP3 saplūšanas proteīnu. Pom121 ir transmembrāns nukleoporīns, kas ir neatņemama kodola poru kompleksa (NPC) sastāvdaļa, kam ir būtiska nozīme kodola apvalka montāžā un NPC funkcijās. Pastiprināta zaļā fluorescējoša proteīna (EGFP3) marķējuma iekļaušana atvieglo Pom121 dinamikas, lokalizācijas un mijiedarbības vizualizāciju un izpēti dzīvās šūnās, izmantojot fluorescences mikroskopiju. Tas padara NRK-Pom121-EGFP3 šūnu līniju par vērtīgu instrumentu kodola transporta mehānismu un NPC arhitektūras izpētei.

NRK šūnas, kas ir NRK-Pom121-EGFP3 vecāku līnija, parasti izmanto dažādos pētījumos, pateicoties to stabilām augšanas īpašībām un epitēlija morfoloģijai. Modifikācija, lai ekspresētu Pom121-EGFP3, pētniekiem nodrošina stabilu modeli, lai pētītu molekulāros mehānismus, kas ir pamatā nukleocitoplazmas transportam, NPC strukturālo organizāciju un tās regulāciju šūnu dalīšanās un diferenciācijas laikā. Turklāt šo šūnu līniju var izmantot, lai pētītu dažādu ģenētisku un farmakoloģisku traucējumu ietekmi uz NPC funkciju, sniedzot ieskatu par slimībām, kas saistītas ar kodola transporta defektiem, piemēram, vēzi un neurodeģeneratīviem traucējumiem.

Kopumā NRK-Pom121-EGFP3 šūnu līnija ir sarežģīts instruments šūnu bioloģijā un molekulārajos pētījumos, kas nodrošina augstas izšķirtspējas ieskatu dinamiskajos procesos, kuri regulē nukleocitoplazmas mijiedarbību. Tās spēja reāllaikā novērot NPC komponentus dzīvās šūnās padara to nenovērtējamu, lai uzlabotu mūsu izpratni par šūnu transporta mehānismiem un to ietekmi uz veselību un slimībām.

Organism Žurkas

Tissue Nieres

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

Raksturojums

Breed/Subspecies OsborneMendel

Morphology Fibroblastiem līdzīgas šūnas ar fusiformas formu

Growth properties Vienslāņa, adhēzija

Normatīvie dati

Citation NRK-Pom121-EGFP3 (Cytion kataloga numurs 500669)

Biosafety level 1

NRK-Pom121-EGFP3 šūnas | 500669

NCBI_TaxID 10116**CellosaurusAccession** CVCL_AV96**Depositor** Ellenberga laboratorija (EMBL)**Biomolekulārie dati****Receptors expressed** Epidermas augšanas faktors (EGF), multiplikāciju stimulējoša aktivitāte (MSA)**Protein expression** Pom121-EGFP3: Atrašanās vieta/gēns: 1..589 / Pcmv, 653..4250 / Pom121, 4251..4287 / null, 4318..6546 / 3EGFP, 7780..8574 / KanR/NeoR**Products** Epidermas augšanas faktors (EGF), multiplikāciju stimulējoša aktivitāte (MSA), POM121, transmembrāna, nukleoporīns, CMV promotors, neomicīns, fosfotransferāze**Darbs ar****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glikozes, w: 4 mM L-glutamīna, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM nātrija piruvāta (Cytion izstrādājuma numurs 820300a)**Supplements** Papildiniet barotni ar 10% FBS, 0,5 mg/ml G418**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Izmetiet veco barotni un izskalojiet šūnas ar PBS. Pievienojiet svaigi sagatavotu 0,025 % tripsīna/0,02 % EDTA šķīdumu, kas uzsildīts līdz 37 °C temperatūrai, un pagaidiet, līdz šūnas atdalās, kas parasti ilgst apmēram 5 minūtes. Neitralizēt tripsīnu, pievienojot svaigu barotni, pēc tam šūnu maisījumu pārvietot mēģenē un centrifugēt. Pēc centrifugēšanas noņemiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnu granulas svaigā barotnē un pārsiet suspensiju uz jaunām kolbām. Iekļaut G418 barotnē, lai sasniegtu galīgo koncentrāciju 0,5 mg/ml**Seeding density** 2 līdz 4 x 10⁴ šūnas/cm²**Fluid renewal** 2 līdz 3 reizes nedēļā**Freeze medium** Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanu un samazinātu krioinducēto stresu.

NRK-Pom121-EGFP3 šūnas | 500669

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Optimālai piestiprināšanai un dzīvotspējai pēc atkausēšanas ieteicams izmantot **ar kolagēnu pārklātas kolbas vai plates**.

**Freezing
Procedure**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

NRK-Pom121-EGFP3 šūnas | 500669

**Shipping
Conditions**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

**Storage
Conditions**

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.