

Celule NRK-EGFP2-Nup50 | 500726

Informații generale

Description

Linia celulară NRK-EGFP2-Nup50 este o linie celulară clonală stabilă derivată din celule de rinichi normal de șobolan (NRK). Această linie celulară a fost generată prin transfecția unei plasmide circulare care conține gena care codifică proteina de fuziune a proteinei fluorescente verzi îmbunătățite (EGFP) și a Nucleoporinei 50 (Nup50), urmată de selecția rezistenței la medicamente. Ca urmare, aproximativ 50 % din celule exprimă proteina de fuziune EGFP3-Nup50, ceea ce permite vizualizarea și urmărirea Nup50 în mediul celular.

Nup50 este o componentă esențială a complexului porului nuclear, care este responsabil pentru reglarea transportului de molecule între nucleu și citoplasmă. Eticheta EGFP3 permite imagistica celulelor vii și alte tehnici bazate pe fluorescență pentru a studia localizarea, dinamica și interacțiunile Nup50. În ciuda faptului că este o linie celulară stabilă, celulele NRK-EGFP2-Nup50 prezintă unele variații, indicând variabilitatea nivelurilor de expresie ale proteinei de fuziune EGFP3-Nup50 între celule.

Această linie celulară este deosebit de valoroasă pentru cercetarea axată pe transportul nucleocitoplasmatic, dinamica complexului porilor nucleari și rolul funcțional al Nup50 în diverse procese celulare. Celulele NRK-EGFP2-Nup50 sunt adecvate pentru o serie de abordări experimentale, inclusiv recuperarea fluorescenței după fotobleaching (FRAP), spectroscopia de corelare a fluorescenței (FCS) și alte tehnici avansate de microscopie. Aceste studii pot oferi informații despre mecanismele moleculare ale transportului nuclear și pot contribui la înțelegerea bolilor asociate cu disfuncția transportului nuclear, cum ar fi anumite tipuri de cancer și tulburări neurodegenerative.

Organism Șobolan

Tissue Rinichi

Synonyms NRK EGFP2-Nup50

Caracteristici

Breed/Subspecies OsborneMendel

Morphology Celule asemănătoare fibroblastelor cu formă fusiformă

Growth properties Monostrat, aderent

Date de reglementare

Citation NRK-EGFP2-Nup50 (număr de catalog Cytion 500726)

Biosafety level 1

Celule NRK-EGFP2-Nup50 | 500726

NCBI_TaxID 10116**CellosaurusAccession** CVCL_AV93**Depositor** Laboratorul Ellenberg (EMBL)

Date biomoleculare

Receptors expressed Factor de creștere epidermică (EGF), activitate de stimulare a multiplicării (MSA)**Protein expression** EGFP3-Nup50**Products** NUP50 (Nucleoporina 50)

Manipulare

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L glucoză, w: 4 mM L-glutamină, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM piruvat de sodiu (număr articol Cytion 820300a)**Supplements** Suplimentați mediul cu 10% FBS, 0,5 mg/mL G418**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Aruncați mediul vechi și spălați celulele cu PBS. Se adaugă o soluție proaspăt preparată de tripsină 0,025%/0,02% EDTA încălzită la 37 de grade Celsius și se așteaptă până când celulele se desprind, ceea ce durează de obicei aproximativ 5 minute. Neutralizați tripsina prin adăugarea de mediu proaspăt, apoi transferați amestecul de celule într-un tub și centrifugați. După centrifugare, îndepărtați supernatantul, resuspendați peletul celular în mediu de cultură proaspăt și transferați suspensia în flacoane noi. Încorporați G418 în mediul de cultură pentru a obține o concentrație finală de 0,5 mg/ml**Split ratio** Se recomandă un raport de 1:3 până la 1:4**Seeding density** 2 până la 4×10^4 cel^{ule}/cm²**Fluid renewal** de 2 până la 3 ori pe săptămână**Freeze medium** Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezghețare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanți optimizați și stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea și a reduce stresul indus de criogenie.

Celule NRK-EGFP2-Nup50 | 500726

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual.
7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă.
8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosferă umidificată.

Flask Coating

Niciuna

Freezing Procedure

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Shipping Conditions

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Celule NRK-EGFP2-Nup50 | 500726

Storage Conditions

Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

Controlul calității / Profil genetic / HLA

Sterility

Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență.

Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.