

Bunky NRK-Pom121-EGFP3 | 500669**Všeobecné informácie****Description**

Bunková línia NRK-Pom121-EGFP3 je odvodená z normálnych potkaních obličkových buniek (NRK) a je geneticky upravená tak, aby exprimovala fúzny proteín Pom121-EGFP3. Pom121 je transmembránový nukleoporín, ktorý je integrálnou zložkou komplexu jadrových pórov (NPC) a zohráva kľúčovú úlohu pri zostavovaní jadrového obalu a funkcii NPC. Zahrnutie značky rozšíreného zeleného fluorescenčného proteínu (EGFP3) uľahčuje vizualizáciu a štúdium dynamiky, lokalizácie a interakcií Pom121 v živých bunkách prostredníctvom fluorescenčnej mikroskopie. To robí z bunkovej línie NRK-Pom121-EGFP3 cenný nástroj na skúmanie mechanizmov jadrového transportu a architektúry NPC.

Bunky NRK, rodičovská línia NRK-Pom121-EGFP3, sa bežne používajú v rôznych výskumných aplikáciách vďaka svojim stabilným rastovým vlastnostiam a epitelovej morfológii. Modifikácia na expresiu Pom121-EGFP3 poskytuje výskumníkovi robustný model na skúmanie molekulárnych mechanizmov, ktoré sú základom nukleocytoplazmatického transportu, štrukturálnej organizácie NPC a jej regulácie počas delenia a diferenciácie buniek. Okrem toho možno túto bunkovú líniu použiť na štúdium účinkov rôznych genetických a farmakologických porúch na funkciu NPC, čo ponúka pohľad na ochorenia spojené s poruchami jadrového transportu, ako sú rakovina a neurodegeneratívne poruchy.

Celkovo predstavuje bunková línia NRK-Pom121-EGFP3 sofistikovaný nástroj v bunkovej biológii a molekulárnom výskume, ktorý umožňuje nahliadnuť s vysokým rozlíšením do dynamických procesov riadiacich nukleocytoplazmatické interakcie. Jej schopnosť umožniť pozorovanie zložiek NPC v reálnom čase v živom bunkovom kontexte ju robí neoceniteľnou pre zlepšenie nášho chápania mechanizmov bunkového transportu a ich dôsledkov v zdraví a chorobe.

Organism

Krysy

Tissue

Obličky

Synonyms

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

Charakteristika**Breed/Subspecies**

OsborneMendel

Morphology

Fibroblastom podobné bunky s fusiformným tvarom

Growth properties

Monovrstva, priliehajúca

Regulačné údaje**Citation**

NRK-Pom121-EGFP3 (katalógové číslo Cytion 500669)

Bunky NRK-Pom121-EGFP3 | 500669

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10116
CellosaurusAccession	CVCL_AV96
Depositor	Ellenbergova laboratória (EMBL)

Biomolekulárne údaje

Receptors expressed	Epidermálny rastový faktor (EGF), aktivita stimulujúca množenie (MSA)
Protein expression	Pom121-EGFP3: Umiestnenie/gén: 1..589 / Pcmv, 653..4250 / Pom121, 4251..4287 / null, 4318..6546 / 3EGFP, 7780..8574 / KanR/NeoR
Products	Epidermálny rastový faktor (EGF), aktivita stimulujúca množenie (MSA), POM121, transmembrána, nukleoporín, CMV promotor, neomycín, fosfotransferáza

Spracovanie

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutamínu, w: 3,7 g/l NaHCO ₃ , w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)
-----------------------	--

Supplements	Doplňte médium o 10 % FBS, 0,5 mg/ml G418
--------------------	---

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

Subculturing	Staré médium zlikvidujte a bunky premyte PBS. Pridajte čerstvo pripravený 0,025 % roztok trypsínu/0,02 % EDTA zahriaty na 37 °C a počkajte, kým sa bunky neoddelia, čo zvyčajne trvá asi 5 minút. Neutralizujte trypsín pridaním čerstvého média, potom zmes buniek preneste do skúmavky a odstredte. Po odstredení odstráňte supernatant, resuspendujte bunkovú peletu v čerstvom kultivačnom médiu a suspenziou prelejte do nových fliaš. Do kultivačného média pridajte G418, aby ste dosiahli konečnú koncentráciu 0,5 mg/ml
---------------------	--

Seeding density	2 až 4 x 10 ⁴ buniek/cm ²
------------------------	---

Fluid renewal	2 až 3-krát týždenne
----------------------	----------------------

Bunky NRK-Pom121-EGFP3 | 500669

Freeze medium

Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Na dosiahnutie optimálneho uchytenia a životaschopnosti po rozmrazení odporúčame používať **banky alebo platne s kolagénom**.

Bunky NRK-Pom121-EGFP3 | 500669

Freezing Procedure

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.