

NRK-EGFP2-Nup50 Hücreleri | 500726

Genel bilgi

Description

NRK-EGFP2-Nup50 hücre hattı, normal sıçan böbrek (NRK) hücrelerinden türetilen klonal stabil bir hücre hattıdır. Bu hücre hattı, Geliştirilmiş Yeşil Floresan Protein (EGFP) ve Nükleoporin 50 (Nup50) füzyon proteinini kodlayan geni içeren dairesel bir plazmidin transfeksiyonu ve ardından ilaç direnci seçimi yoluyla oluşturulmuştur. Sonuç olarak, hücrelerin yaklaşık %50'si EGFP3-Nup50 füzyon proteinini ifade eder ve bu da Nup50'nin hücre ortamında görüntülenmesini ve izlenmesini sağlar.

Nup50, çekirdek ve sitoplazma arasında moleküllerin taşınmasını düzenlemekten sorumlu olan nükleer gözenek kompleksinin kritik bir bileşenidir. EGFP3 etiketi, Nup50'nin lokalizasyonunu, dinamiklerini ve etkileşimlerini incelemek için canlı hücre görüntüleme ve diğer floresan bazlı tekniklere izin verir. NRK-EGFP2-Nup50 hücreleri, kararlı bir hücre hattı olmasına rağmen, hücreler arasında EGFP3-Nup50 füzyon proteininin ekspresyon seviyelerindeki değişkenliği gösteren bir miktar alacalanma sergiler.

Bu hücre hattı, nükleositoplazmik taşıma, nükleer gözenek kompleksi dinamikleri ve Nup50'nin çeşitli hücresel süreçlerdeki işlevsel rolüne odaklanan araştırmalar için özellikle değerlidir. NRK-EGFP2-Nup50 hücreleri, fotobozulma sonrası floresan geri kazanımı (FRAP), floresan korelasyon spektroskopisi (FCS) ve diğer gelişmiş mikroskopi teknikleri dahil olmak üzere bir dizi deneysel yaklaşım için uygundur. Bu çalışmalar, nükleer taşımanın moleküler mekanizmaları hakkında bilgi sağlayabilir ve belirli kanserler ve nörodejeneratif bozukluklar gibi nükleer taşıma işlev bozukluğu ile ilişkili hastalıkların anlaşılmasına katkıda bulunabilir.

Organism Sıçan

Tissue Böbrek

Synonyms NRK EGFP2-Nup50

Özellikler

Breed/Subspecies OsborneMendel

Morphology Fusiform şekilli fibroblast benzeri hücreler

Growth properties Tek katmanlı, yapışık

Düzenleyici Veriler

Citation NRK-EGFP2-Nup50 (Cytion katalog numarası 500726)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10116

NRK-EGFP2-Nup50 Hücreleri | 500726

CellosaurusAccession CVCL_AV93**Depositor** Ellenberg Laboratuvarı (EMBL)**Biyomoleküler Veriler****Receptors expressed** Epidermal büyüme faktörü (EGF), çoğalmayı uyarıcı aktivite (MSA)**Protein expression** EGFP3-Nup50**Products** NUP50 (Nükleoporin 50)**Elleçleme****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L Glukoz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM Sodyum piruvat (Cytion ürün numarası 820300a)**Supplements** Ortamı %10 FBS, 0,5 mg/mL G418 ile takviye edin**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Eski ortamı atın ve hücreleri PBS ile yıkayın. Taze hazırlanmış %0,025 tripsin/%0,02 EDTA çözeltisini 37 santigrat dereceye ısıtarak ekleyin ve hücreler ayrılana kadar bekleyin; bu süre genellikle yaklaşık 5 dakika sürer. Taze besiyeri ekleyerek tripsini nötralize edin, ardından hücre karışımını bir tüpe aktarın ve santrifüjleyin. Santrifüjden sonra süpernatantı çıkarın, hücre peletini taze kültür ortamında yeniden süspansiyon edin ve süspansiyonu yeni şişelere aktarın. 0,5 mg/ml nihai konsantrasyon elde etmek için kültür ortamına G418 ekleyin**Split ratio** 1:3 ile 1:4 arası bir oran önerilir**Seeding density** 2 ila 4×10^4 hücre/cm²**Fluid renewal** haftada 2 ila 3 kez**Freeze medium** Kriyoprezervasyon ortamı olarak, yeterli çözülme sonrası canlılık için tam büyüme ortamı (FBS dahil) + %10 DMSO veya iyileşmeyi artırmak ve kriyo-indüklenmiş stresi azaltmak için optimize edilmiş ozmoprotektanlar ve metabolik stabilizatörler içeren CM-1 (Cytion katalog numarası 800100) kullanıyoruz.

NRK-EGFP2-Nup50 Hücreleri | 500726

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Hücreler taşıma sırasında optimum sıcaklıkları korumak için kuru buz üzerinde gönderildiğinden, flakonun teslimat sırasında derin dondurulmuş halde kaldığını teyit edin.
2. Teslim aldıktan sonra, hücresel bütünlüğün korunmasını sağlamak için kriyovialı hemen -150°C'nin altındaki sıcaklıklarda saklayın veya hemen kültürleme gerekiyorsa 3. adıma geçin.
3. Derhal kültürleme için flakonun temiz su ve antimikrobiyal bir madde içeren 37°C'lik bir su banyosuna daldırıp küçük bir buz kümesi kalana kadar 40-60 saniye boyunca hafifçe çalkalayarak hızlıca çözün.
4. Sonraki tüm adımları steril koşullar altında bir akış başlığı içinde gerçekleştirin ve açmadan önce kriyoviyalleri %70 etanol ile dezenfekte edin.
5. Dezenfekte edilmiş flakonun dikkatlice açın ve hücre süspansiyonunu 8 ml oda sıcaklığında kültür ortamı içeren 15 ml'lik bir santrifüj tüpüne aktarın ve hafifçe karıştırın.
6. Hücreleri ayırmak için karışımı 300 x g'de 3 dakika santrifüjleyin ve artık dondurma ortamı içeren süpernatantı dikkatlice atın.
7. Hücre pelletini 10 ml taze kültür ortamında yavaşça yeniden süspansiyon edin. Yapışık hücreler için, süspansiyonu iki T25 kültür şişesi arasında bölün; süspansiyon kültürleri için, etkili hücre etkileşimini ve büyümesini teşvik etmek üzere tüm ortamı tek bir T25 şişesine aktarın.
8. Hücre hattının sürekli büyümesi ve bakımı için belirlenmiş alt kültür protokollerine uyun ve güvenilir deneysel sonuçlar elde edin.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, %5_{CO2}, nemlendirilmiş atmosfer.

Flask Coating

Yok

**Freezing
Procedure**

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

**Shipping
Conditions**

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

NRK-EGFP2-Nup50 Hücresleri | 500726

Storage Conditions

Uzun süreli muhafaza için flakonları yaklaşık -150 ila -196 °C'de buhar fazlı sıvı nitrojen içine yerleştirin. 80 °C'de saklama yalnızca sıvı nitrojene aktarılmadan önce kısa bir ara adım olarak kabul edilebilir.

Kalite kontrol / Genetik profil / HLA

Sterility

Mikoplazma kontaminasyonu hem PCR tabanlı tahliller hem de lüminesans tabanlı mikoplazma tespit yöntemleri kullanılarak dışlanır.

Bakteriyel, fungal veya maya kontaminasyonu olmadığından emin olmak için hücre kültürleri günlük görsel incelemelere tabi tutulur.