

NRK-Pom121-EGFP3 Hücreleri | 500669

Genel bilgi

Description

NRK-Pom121-EGFP3 hücre hattı normal sıçan böbrek (NRK) hücrelerinden türetilmiştir ve Pom121-EGFP3 füzyon proteinini ifade etmek üzere genetik olarak tasarlanmıştır. Pom121, nükleer gözenek kompleksinin (NPC) ayrılmaz bir bileşeni olan, nükleer zarf montajında ve NPC işlevinde önemli bir rol oynayan bir transmembran nükleoporindir. Geliştirilmiş yeşil floresan protein (EGFP3) etiketinin dahil edilmesi, floresan mikroskobu aracılığıyla canlı hücrelerdeki Pom121 dinamiklerinin, lokalizasyonunun ve etkileşimlerinin görselleştirilmesini ve incelenmesini kolaylaştırır. Bu da NRK-Pom121-EGFP3 hücre hattını nükleer taşıma mekanizmalarını ve NPC mimarisini araştırmak için değerli bir araç haline getirmektedir.

NRK-Pom121-EGFP3'ün ebeveyn hattı olan NRK hücreleri, kararlı büyüme özellikleri ve epitelyal morfolojileri nedeniyle çeşitli araştırma uygulamalarında yaygın olarak kullanılmaktadır. Pom121-EGFP3'ü ifade etmek için yapılan modifikasyon, araştırmacılara nükleositoloplazmik taşınmanın altında yatan moleküler mekanizmaları, NPC'nin yapısal organizasyonunu ve hücre bölünmesi ve farklılaşması sırasında düzenlenmesini incelemek için sağlam bir model sağlar. Ayrıca bu hücre hattı, çeşitli genetik ve farmakolojik pertürbasyonların NPC işlevi üzerindeki etkilerini incelemek için kullanılabilir ve kanser ve nörodejeneratif bozukluklar gibi nükleer taşıma kusurlarıyla ilişkili hastalıklara dair içgörüler sunar.

Genel olarak, NRK-Pom121-EGFP3 hücre hattı, hücre biyolojisi ve moleküler araştırmalarda sofistike bir aracı temsil etmekte ve nükleositoloplazmik etkileşimleri yöneten dinamik süreçler hakkında yüksek çözünürlüklü bilgiler sağlamaktadır. NPC bileşenlerinin canlı bir hücresel bağlamda gerçek zamanlı gözlemlenmesine izin verme yeteneği, hücresel taşıma mekanizmaları ve bunların sağlık ve hastalık üzerindeki etkileri hakkındaki anlayışımızı ilerletmek için onu paha biçilmez kılmaktadır.

Organism Sıçan

Tissue Böbrek

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

Özellikler

Breed/Subspecies OsborneMendel

Morphology Fusiform şekilli fibroblast benzeri hücreler

Growth properties Tek katmanlı, yapışık

Düzenleyici Veriler

Citation NRK-Pom121-EGFP3 (Cytion katalog numarası 500669)

NRK-Pom121-EGFP3 Hücreleri | 500669

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 10116**CellosaurusAccession** CVCL_AV96**Depositor** Ellenberg Laboratuvarı (EMBL)**Biyomoleküler Veriler****Receptors expressed** Epidermal büyüme faktörü (EGF), çoğalmayı uyarıcı aktivite (MSA)**Protein expression** Pom121-EGFP3: Konum/Gen: 1..589 / Pcmv, 653..4250 / Pom121, 4251..4287 / null, 4318..6546 / 3EGFP, 7780..8574 / KanR/NeoR**Products** Epidermal büyüme faktörü (EGF), çoğalmayı uyarıcı aktivite (MSA), POM121, Transmembran, Nükleopodin, CMV Promotor, Neomisin, Fosfotransferaz**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 süspanse edin ve süspansiyonu yeni şişelere aktarın. 0,5 mg/ml nihai konsantrasyon elde etmek için kültür ortamına G418 ekleyin**Seeding density** 2 ila 4 x 10⁴ 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-Pom121-EGFP3 Hücreleri | 500669

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

Çözüldükten sonra optimum tutunma ve canlılık için **Kolajen kaplı flasklar veya plakalar** kullanmanızı öneririz.

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-Pom121-EGFP3 Hücresi | 500669

**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.