

Клітини NRK-EGFP2-Nup50 | 500726

Загальна інформація

Description

Клітинна лінія NRK-EGFP2-Nup50 - це клональна стабільна клітинна лінія, отримана з клітин нормальної нирки щура (NRK). Ця клітинна лінія була отримана шляхом трансфекції кільцевої плазмиди, що містить ген, який кодує білок злиття розширеного зеленого флуоресцентного білка (EGFP) і нуклеопорину 50 (Nup50), з подальшою селекцією на стійкість до лікарських препаратів. В результаті приблизно 50% клітин експресують злитий білок EGFP3-Nup50, що дозволяє візуалізувати і відстежувати Nup50 в клітинному середовищі.

Nup50 є критично важливим компонентом комплексу ядерних пор, який відповідає за регуляцію транспорту молекул між ядром і цитоплазмою. Мітка EGFP3 дозволяє за допомогою візуалізації живих клітин та інших флуоресцентних методів вивчати локалізацію, динаміку та взаємодію Nup50. Незважаючи на те, що клітини NRK-EGFP2-Nup50 є стабільною клітинною лінією, вони демонструють деяку варіабельність, що вказує на варіабельність рівнів експресії злитого білка EGFP3-Nup50 між клітинами.

Ця клітинна лінія є особливо цінною для досліджень, спрямованих на вивчення нуклеоцитоплазматичного транспорту, динаміки ядерно-порового комплексу та функціональної ролі Nup50 у різних клітинних процесах. Клітини NRK-EGFP2-Nup50 підходять для низки експериментальних підходів, включаючи відновлення флуоресценції після фотовідбілювання (FRAP), флуоресцентну кореляційну спектроскопію (FCS) та інші передові методи мікроскопії. Ці дослідження можуть дати уявлення про молекулярні механізми ядерного транспорту і сприяти розумінню захворювань, пов'язаних з дисфункцією ядерного транспорту, таких як деякі види раку і нейродегенеративні розлади.

Organism

Щур

Tissue

Нирка

Synonyms

NRK EGFP2-Nup50

Характеристики

Breed/Subspecies

Осборн-Мендель

Morphology

Фібробластоподібні клітини веретеноподібної форми

Growth properties

Одношаровий, адгезійний

Нормативні дані

Citation

NRK-EGFP2-Nup50 (номер за каталогом Cytion 500726)

Клітини NRK-EGFP2-Nup50 | 500726

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 10116**CellosaurusAccession** CVCL_AV93**Depositor** Лабораторія Елленберга (EMBL)**Біомолекулярні дані****Receptors expressed** Епідермальний фактор росту (EGF), активність, що стимулює розмноження (MSA)**Protein expression** EGFP3-Nup50**Products** NUP50 (Нуклеопорин 50)**Обробка****Culture Medium** ДМЕМ, w: 4,5 г/л Глюкоза, w: 4 мМ L-глутамін, w: 3,7 г/л NaHCO₃, w: 1,0 мМ піруват натрію (цит. номер 820300a)**Supplements** Додайте до середовища 10% FBS, 0,5 мг/мл G418**Dissociation Reagent** Аккутаза**Subculturing** Викиньте старе середовище і промийте клітини PBS. Додайте свіжоприготований 0,025% розчин трипсину/0,02% розчин ЕДТА, нагрітий до 37 градусів Цельсія, і зачекайте, поки клітини відокремляться, що зазвичай займає близько 5 хвилин. Нейтралізуйте трипсин, додавши свіже середовище, потім перенесіть клітинну суміш у пробірку і центрифугуйте. Після центрифугування видаліть надосадову рідину, ресуспендуйте осад клітин у свіжому живильному середовищі та перенесіть суспензію в нові колби. Додайте G418 в культуральне середовище для досягнення кінцевої концентрації 0,5 мг/мл**Split ratio** Рекомендується співвідношення від 1:3 до 1:4**Seeding density** Від 2 до 4 x 10⁴ клітин/см²**Fluid renewal** 2-3 рази на тиждень

Клітини NRK-EGFP2-Nup50 | 500726

Freeze medium

Як середовище криоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або СМ-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення криоіндукованого стресу.

Thawing and Culturing Cells

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте криовіал при температурі нижче -150°C , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануливши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи криовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при $300 \times g$ протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтесь встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , волога атмосфера.

Flask Coating

Hi

Клітини NRK-EGFP2-Nup50 | 500726

Freezing Procedure

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Storage Conditions

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості / Генетичний профіль / HLA

Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.