

Клітини NRK-Pom121-EGFP3 | 500669

Загальна інформація

Description

Клітинна лінія NRK-Pom121-EGFP3 отримана з клітин нормальної нирки щура (NRK) і генно-інженерно сконструйована для експресії злитого білка Pom121-EGFP3. Pom121 - це трансмембранний нуклеопорін, який є невід'ємним компонентом комплексу ядерних пор (NPC), що відіграє вирішальну роль у формуванні ядерної оболонки та функціонуванні NPC. Включення мітки розширеного зеленого флуоресцентного білка (EGFP3) полегшує візуалізацію та вивчення динаміки, локалізації та взаємодії Pom121 в живих клітинах за допомогою флуоресцентної мікроскопії. Це робить клітинну лінію NRK-Pom121-EGFP3 цінним інструментом для дослідження механізмів ядерного транспорту та архітектури NPC.

Клітини NRK, батьківська лінія NRK-Pom121-EGFP3, широко використовуються в різних дослідницьких програмах завдяки своїм стабільним характеристикам росту та епітеліальній морфології. Модифікація для експресії Pom121-EGFP3 надає дослідникам надійну модель для вивчення молекулярних механізмів, що лежать в основі нуклеоцитоплазматичного транспорту, структурної організації NPC та її регуляції під час поділу та диференціації клітин. Крім того, ця клітинна лінія може бути використана для вивчення впливу різних генетичних і фармакологічних збурень на функцію NPC, пропонуючи розуміння захворювань, пов'язаних з дефектами ядерного транспорту, таких як рак і нейродегенеративні розлади.

Загалом, клітинні лінії NRK-Pom121-EGFP3 є складним інструментом у клітинній біології та молекулярних дослідженнях, що дозволяє з високою роздільною здатністю вивчати динамічні процеси, які керують нуклеоцитоплазматичними взаємодіями. Здатність спостерігати за компонентами NPC в реальному часі в живому клітинному контексті робить його безцінним для поглиблення нашого розуміння механізмів клітинного транспорту та їхнього впливу на здоров'я і хворобу.

Organism Щур

Tissue Нирка

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

Характеристики

Breed/Subspecies Осборн-Мендель

Morphology Фібробластоподібні клітини веретеноподібної форми

Growth properties Одношаровий, адгезійний

Нормативні дані

Citation NRK-Pom121-EGFP3 (номер за каталогом Cytion 500669)

Клітини NRK-Pom121-EGFP3 | 500669

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 10116**CellosaurusAccession** CVCL_AV96**Depositor** Лабораторія Елленберга (EMBL)**Біомолекулярні дані****Receptors expressed** Епідермальний фактор росту (EGF), активність, що стимулює розмноження (MSA)**Protein expression** Pom121-EGFP3: Розташування/ген: 1..589 / Pcmv, 653.4250 / Pom121, 4251.4287 / null, 4318.6546 / 3EGFP, 7780.8574 / KanR/NeoR**Products** Епідермальний фактор росту (EGF), активність, що стимулює розмноження (MSA), POM121, трансмембрана, нуклеопорин, промотор ЦМВ, неоміцин, фосфотрансфераза**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**Seeding density** Від 2 до 4 x 10⁴ клітин/см²**Fluid renewal** 2-3 рази на тиждень

Клітини NRK-Pom121-EGFP3 | 500669

Freeze medium

Як середовище криоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-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

Для оптимального прикріплення та життєздатності після розморожування ми рекомендуємо використовувати **колби або пластини з колагеновим покриттям**.

Клітини NRK-Pom121-EGFP3 | 500669

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, грибкового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.