Product sheet

Tế bào NRK-EGFP2-Nup50 | 500726

Thông tin chung

Description	Dòng tế bào NRK-EGFP2-Nup50 là một dòng tế bào ổn định được phân lập từ tế bào thận chuột bình thường (NRK). Dòng tế bào này được tạo ra thông qua quá trình chuyển gen bằng plasmid tròn chứa gen mã hóa protein liên hợp giữa Protein Phát Quang Xanh Tăng Cường (EGFP) và Nucleoporin 50 (Nup50), sau đó được chọn lọc bằng kháng sinh. Kết quả, khoảng 50% tế bào biểu hiện protein liên hợp EGFP3-Nup50, cho phép quan sát và theo dõi Nup50 trong môi trường tế bào. Nup50 là thành phần quan trọng của phức hợp lỗ nhân, chịu trách nhiệm điều tiết vận chuyển phân tử giữa nhân và chất tế bào. Thẻ EGFP3 cho phép quan sát tế bào sống và các kỹ thuật dựa trên huỳnh quang để nghiên cứu vị trí, động học và tương tác của Nup50. Mặc dù là dòng tế bào ổn định, các tế bào NRK-EGFP2-Nup50 vẫn có sự biến đổi, cho thấy sự khác biệt về mức độ biểu hiện của protein liên hợp EGFP3-Nup50 giữa các tế bào. Dòng tế bào này đặc biệt hữu ích cho các nghiên cứu tập trung vào vận chuyển nhân-chất tế bào, động học của phức hợp lỗ nhân và vai trò chức năng của Nup50 trong các quá trình tế bào khác nhau. Các tế bào NRK-EGFP2-Nup50 phù hợp cho nhiều phương pháp thí nghiệm, bao gồm phục hồi huỳnh quang sau khi làm mờ bằng ánh sáng (FRAP), quang phổ tương quan huỳnh quang (FCS) và các kỹ thuật viễn vọng hiện đại khác. Các nghiên cứu này có thể cung cấp thông tin về cơ chế phân tử của vận chuyển nhân và góp phần vào việc hiểu rõ các bệnh liên quan đến rối loạn vận chuyển nhân, như một số loại ung thư và rối loạn thoái hóa thần kinh.
Organism	Chuột
Tissue	Thận
Synonyms	NRK EGFP2-Nup50

Đặc điểm

Breed/Subspecies	Osborne Mendel
Morphology	Tế bào giống fibroblast có hình dạng fusiform
Growth properties	Lớp đơn, bám dính

Dữ liệu quy định

Citation	NRK-EGFP2-Nup50 (Số catalog của Cytion: 500726)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10116

Tế bào NRK-EGFP2-Nup50 | 500726

CellosaurusAccession	CVCL_AV93
Depositor	Phòng thí nghiệm Ellenberg (EMBL)

Dữ liệu sinh học phân tử

Receptors expressed	Yếu tố tăng trưởng biểu bì (EGF), hoạt tính kích thích nhân lên (MSA)
Protein expression	EGFP3-Nup50
Products	NUP50 (Protein lỗ nhân 50)

Xử lý

Culture Medium	DMEM, chứa: 4,5 g/L glucose, chứa: 4 mM L-glutamine, chứa: 3,7 g/L $NaHCO_3$, chứa: 1,0 mM natri pyruvate (số hiệu sản phẩm Cytion 820300a)
Supplements	Bổ sung vào môi trường nuôi cấy 10% huyết thanh bò phôi (FBS) và 0,5 mg/mL G418
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Loại bỏ môi trường cũ và rửa tế bào bằng PBS. Thêm dung dịch trypsin 0,025%/EDTA 0,02% mới pha, đã được làm nóng đến 37 độ Celsius, và chờ cho đến khi tế bào tách ra, thường mất khoảng 5 phút. Trung hòa trypsin bằng cách thêm môi trường tươi, sau đó chuyển hỗn hợp tế bào vào ống và ly tâm. Sau khi ly tâm, loại bỏ dịch trên, tái phân tán cặn tế bào trong môi trường nuôi cấy tươi và chuyển hỗn hợp vào bình mới. Thêm G418 vào môi trường nuôi cấy để đạt nồng độ cuối cùng 0,5 mg/ml
Seeding density	2 đến 4 × 10^4 tế bào/cm^2
Fluid renewal	2 đến 3 lần mỗi tuần
Freeze medium	Như một môi trường bảo quản đông lạnh, chúng tôi sử dụng môi trường tăng trưởng hoàn chỉnh (bao gồm FBS) + 10% DMSO để đảm bảo độ sống sau khi rã đông, hoặc CM-1 (mã sản phẩm Cytion 800100), bao gồm các chất bảo vệ thẩm thấu và chất ổn định chuyển hóa được tối ưu hóa để nâng cao khả năng phục hồi và giảm stress do đông lạnh gây ra.

Tế bào NRK-EGFP2-Nup50 | 500726

Thawing and Culturing Cells

1. Xác nhận rằng ống nghiệm vẫn được đông lạnh sâu khi giao hàng, vì tế bào được vận chuyển trên đá khô để duy trì nhiệt độ tối ưu trong quá trình vận chuyển.

2. Khi nhận hàng, hãy bảo quản ống nghiệm đông lạnh ngay lập tức ở nhiệt độ dưới -150°C để đảm bảo tính toàn vẹn của tế bào, hoặc tiến hành bước 3 nếu cần nuôi cấy ngay lập tức.

3. Để nuôi cấy ngay lập tức, hãy rã đông ống nghiệm nhanh chóng bằng cách ngâm nó trong bồn nước 37°C với nước sạch và chất kháng khuẩn, khuấy nhẹ trong 40-60 giây cho đến khi còn lại một khối băng nhỏ.

4. Thực hiện tất cả các bước tiếp theo trong điều kiện vô trùng trong tủ hút khí, khử trùng ống cryovial bằng cồn 70% trước khi mở.

5. Mở ống đã khử trùng một cách cẩn thận và chuyển hỗn hợp tế bào vào ống ly tâm 15 ml chứa 8 ml môi trường nuôi cấy ở nhiệt độ phòng, khuấy nhẹ.

6. Ly tâm hỗn hợp ở 300 x g trong 3 phút để tách tế bào và cẩn thận loại bỏ dịch siêu âm chứa môi trường đông lạnh còn lại.

7. Nhẹ nhàng hòa tan lại khối tế bào trong 10 ml môi trường nuôi cấy tươi. Đối với tế bào bám dính, chia hỗn hợp vào hai bình nuôi cấy T25; đối với tế bào nuôi cấy lơ lửng, chuyển toàn bộ môi trường vào một bình T25 để thúc đẩy tương tác và phát triển tế bào hiệu quả.

8. Tuân thủ các quy trình nuôi cấy con được thiết lập để duy trì sự phát triển và bảo quản dòng tế bào, đảm bảo kết quả thí nghiệm đáng tin cậy.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO_2}$, môi trường ẩm.

Flask Coating

Để đạt được độ bám dính và khả năng sống sót tối ưu sau khi rã đông, chúng tôi khuyến nghị sử dụng **các ống nghiệm hoặc đĩa được phủ collagen**.

Freezing Procedure

Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng −78 °C trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.

Tế bào NRK-EGFP2-Nup50 | 500726

Shipping Conditions	Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng −78 °C trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.
Storage Conditions	Để bảo quản lâu dài, hãy đặt ống nghiệm vào nitơ lỏng ở pha hơi ở nhiệt độ khoảng −150 đến −196 °C. Việc bảo quản ở −80 °C chỉ được chấp nhận như một bước trung gian ngắn hạn trước khi chuyển sang nitơ lỏng.

Kiểm soát chất lượng / Hồ sơ di truyền / HLA

Sterility	Sự nhiễm khuẩn Mycoplasma được loại trừ bằng cả các phương pháp xét nghiệm dựa trên PCR và các phương pháp phát hiện Mycoplasma dựa trên phát quang. Để đảm bảo không có nhiễm khuẩn vi khuẩn, nấm hoặc men, các mẫu nuôi cấy tế bào được kiểm tra trực quan hàng ngày.