

Tế bào NRK-Pom121-EGFP3 | 500669

Thông tin chung

Description

Dòng tế bào NRK-Pom121-EGFP3 được phát triển từ tế bào thận bình thường của chuột (NRK) và được biến đổi gen để biểu hiện protein liên hợp Pom121-EGFP3. Pom121 là một protein xuyên màng thuộc nhóm nucleoporin, là thành phần thiết yếu của phức hợp lỗ hạt nhân (NPC), đóng vai trò quan trọng trong quá trình lắp ráp màng hạt nhân và chức năng của NPC. Việc tích hợp thẻ protein huỳnh quang xanh lá cây tăng cường (EGFP3) giúp quan sát và nghiên cứu động học, vị trí và tương tác của Pom121 trong tế bào sống thông qua kính hiển vi huỳnh quang. Điều này khiến dòng tế bào NRK-Pom121-EGFP3 trở thành công cụ quý giá để nghiên cứu cơ chế vận chuyển nhân và cấu trúc NPC.

Tế bào NRK, dòng tế bào gốc của NRK-Pom121-EGFP3, thường được sử dụng trong các ứng dụng nghiên cứu khác nhau nhờ đặc tính tăng trưởng ổn định và hình thái biểu mô. Việc sửa đổi để biểu hiện Pom121-EGFP3 cung cấp cho các nhà nghiên cứu một mô hình mạnh mẽ để khám phá các cơ chế phân tử cơ bản của vận chuyển nhân-chất lỏng, tổ chức cấu trúc của NPC và sự điều hòa của nó trong quá trình phân chia và biệt hóa tế bào. Ngoài ra, dòng tế bào này có thể được sử dụng để nghiên cứu tác động của các can thiệp di truyền và được lý khác nhau đối với chức năng NPC, cung cấp những hiểu biết về các bệnh liên quan đến rối loạn vận chuyển nhân, như ung thư và các rối loạn thoái hóa thần kinh.

Tổng thể, dòng tế bào NRK-Pom121-EGFP3 đại diện cho một công cụ tiên tiến trong sinh học tế bào và nghiên cứu phân tử, cung cấp những hiểu biết chi tiết về các quá trình động học điều khiển tương tác nhân-chất lỏng. Khả năng quan sát các thành phần NPC trong bối cảnh tế bào sống theo thời gian thực khiến nó trở nên vô giá trong việc nâng cao hiểu biết về cơ chế vận chuyển tế bào và tác động của chúng đối với sức khỏe và bệnh tật.

Organism

Chuột

Tissue

Thận

Synonyms

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

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-Pom121-EGFP3 (Số catalog của Cytion: 500669)

Biosafety level

1

Tế bào NRK-Pom121-EGFP3 | 500669

NCBI_TaxID 10116

CellosaurusAccession CVCL_AV96

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** Pom121-EGFP3: Vị trí/Gen: 1..589 / Pcmv, 653..4250 / Pom121, 4251..4287 / null, 4318..6546 / 3EGFP, 7780..8574 / KanR/NeoR**Products** Yếu tố tăng trưởng biểu bì (EGF), Hoạt tính kích thích nhân lên (MSA), POM121, Protein xuyên màng, Nucleoporin, Promotor CMV, Neomycin, Phosphotransferase

Xử lý

Culture Medium DMEM, chứa: 4,5 g/L glucose, chứa: 4 mM L-glutamine, chứa: 3,7 g/L NaHCO₃, 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 cấy 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/cm²**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-Pom121-EGFP3 | 500669**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 $300 \times g$ 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-Pom121-EGFP3 | 500669

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.