NRK-EGFP2-Nup50

500726

VŠEOBECNÉ INFORMÁCIE

Popis

Bunková línia NRK-EGFP2-Nup50 je klonálna stabilná bunková línia odvodená z buniek normálnych potkaních obličiek (NRK). Táto bunková línia bola vytvorená transfekciou kruhového plazmidu obsahujúceho gén kódujúci fúzny proteín zosilneného zeleného fluorescenčného proteínu (EGFP) a nukleoporínu 50 (Nup50), po ktorej nasledovala selekcia na liekovú rezistenciu. Výsledkom je, že približne 50 % buniek exprimuje fúzny proteín EGFP3-Nup50, čo umožňuje vizualizáciu a sledovanie Nup50 v bunkovom prostredí.
Nup50 je kritickou zložkou komplexu jadrových pórov, ktorý je zodpovedný za reguláciu prenosu molekúl medzi jadrom a cytoplazmou. Značka EGFP3 umožňuje zobrazovanie živých buniek a iné techniky založené na fluorescencii na štúdium lokalizácie, dynamiky a interakcií Nup50. Napriek tomu, že ide o stabilnú bunkovú líniu, bunky NRK-EGFP2-Nup50 vykazujú určitú variabilitu, čo poukazuje na variabilitu úrovne expresie fúzneho proteínu EGFP3-Nup50 medzi bunkami.
Táto bunková línia je mimoriadne cenná pre výskum zameraný na nukleocytoplazmatický transport, dynamiku komplexu jadrových pórov a funkčnú úlohu Nup50 v rôznych bunkových procesoch. Bunky NRK-EGFP2-Nup50 sú vhodné na celý rad experimentálnych prístupov vrátane obnovy fluorescencie po fotobleachingu (FRAP), fluorescenčnej korelačnej spektroskopie (FCS) a iných pokročilých mikroskopických techník. Tieto štúdie môžu poskytnúť pohľad na molekulárne mechanizmy jadrového transportu a prispieť k pochopeniu ochorení spojených s dysfunkciou jadrového transportu, ako sú niektoré druhy rakoviny a neurodegeneratívne poruchy.

Tkanivo	Obličky

Synonymá

- NRK EGFP2-Nup50

KLASIFIKÁCIA

Organizmus	Potkan
Rastové vlastnosti	Prívrženec
Úroveň biologickej bezpečnosti	1

CHARAKTERISTIKY

Morfológia	Fibroblastom podobné bunky s fusiformným tvarom

IDENTIFIKÁTORY

Citácia

NRK-EGFP2-Nup50 (katalógové číslo Cytion 500726)

Daňové identifikačné číslo NCBI	10116
Cellosaurus	CVCL_AV93
Vkladateľ	Ellenbergova laboratória (EMBL)

PREJAV A NÁCHYLNOSŤ

Exprimované receptory

Epidermálny rastový faktor (EGF), aktivita stimulujúca množenie (MSA)

Expresia proteínov

EGFP3-Nup50

Produkty

NUP50 (nukleoporín 50)

MANIPULÁCIA A KULTIVÁCIA

Kultivačné médium

DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutamínu, w: 3,7 g/l NaHCO3, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)

Inkubačná atmosféra	37 °C, 5 %CO2, zvlhčená atmosféra.

Doplnky stravy

Doplňte médium o 10 % FBS, 0,5 mg/ml G418

Disociačné činidlo	Accutase

Rozmnožovanie kultúr

Staré médium zlikvidujte a bunky premyte PBS. Pridajte čerstvo pripravený 0,025 % roztok trypsínu/0,02 % EDTA zahriaty na 37 °C a počkajte, kým sa bunky neoddelia, čo zvyčajne trvá asi 5 minút. Neutralizujte trypsín pridaním čerstvého média, potom zmes buniek preneste do skúmavky a odstreďte. Po odstredení odstráňte supernatant, resuspendujte bunkovú peletu v čerstvom kultivačnom médiu a suspenziou prelejte do nových fliaš. Do kultivačného média pridajte G418, aby ste dosiahli konečnú koncentráciu 0,5 mg/ml

Hustota výsevu	2 až 4 x 10^4 buniek/cm^2
Obnova kvapaliny	2 až 3-krát týždenne

Rozmrazovanie a kultivácia

Confirm that the vial remains deeply frozen upon delivery, as cells are shipped on dry ice to maintain optimal temperatures during transit. Upon receipt, either store the cryovial immediately at temperatures below -150°C to ensure the preservation of cellular integrity, or proceed to step 3 if immediate culturing is required.
For immediate culturing, swiftly thaw the vial by immersing it in a 37°C water bath with clean water and an antimicrobial agent, agitating gently for 40-60 seconds until a small ice clump remains.
Perform all subsequent steps under sterile conditions in a flow hood, disinfecting the cryovial with 70% ethanol before opening.
Carefully open the disinfected vial and transfer the cell suspension into a 15 ml centrifuge tube containing 8 ml of room-temperature culture medium, mixing gently.
Centrifuge the mixture at 300 x g for 3 minutes to separate the cells and carefully discard the supernatant containing residual freezing medium.
Gently resuspend the cell pellet in 10 ml of fresh culture medium. For adherent cells, divide the suspension between two T25 culture flasks; for suspension cultures, transfer all the medium into one T25 flask to promote effective cell interaction and growth.
Adhere to established subculture protocols for continued growth and maintenance of the cell line, ensuring reliable experimental outcomes.

KONTROLA KVALITY A KRYOKONZERVÁCIA

Sterilita

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplaziem založených na luminiscencii. Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.

Mrazové médium	Ako kryokonzervačné médium používame kompletné rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie obnovy a zníženie stresu spôsobeného kryo.

Podmienky skladovania

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Dopravné podmienky

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

DARCA

Plemeno / poddruh	OsborneMendel

PRÁVNE INFORMÁCIE A BEZPEČNOSŤ

Bezpečnostné opatrenia

Pri plánovaní uskladnenia kryovírusu v kvapalnom dusíku na budúce rozmrazenie je potrebné dodržiavať prísne bezpečnostné opatrenia. Vhodné ochranné rukavice a odev sú nevyhnutné a počas prenosu zmrazených vzoriek do nádrže s tekutým dusíkom alebo z nej sa vyžaduje používanie tvárovej masky alebo ochranných okuliarov. Je to z dôvodu zníženia rizika poranenia v dôsledku možnej explózie kryovírusu pri vyberaní, ktorá môže mať za následok vymrštenie ostrých úlomkov.

Upozornenie

Naše bunky sa poskytujú výlučne na účely laboratórneho výskumu in vitro a nie sú určené na klinické alebo diagnostické použitie, ani sa nemajú podávať ľuďom alebo používať na veterinárne účely. Používatelia musia dodržiavať všetky platné smernice a predpisy pre manipuláciu a používanie týchto buniek vo výskumnom prostredí.

Záruka

V spoločnosti Cytion si stojíme za kvalitou a životaschopnosťou našich produktov.
Garantujeme, že naše bunky budú životaschopné na začiatku kultivácie počas 60 dní po odoslaní z našich zariadení.
Zaručujeme, že všetky materiály zodpovedajú špecifikáciám opísaným v certifikáte analýzy a/alebo v produktovom liste
Úplné informácie nájdete v našom <a href=""/Kto sme/záruka/"" hreflang=""x-default"">Vyhlásení o záruke

Platia zmluvy s tretími stranami	Yes