

NRK-Pom121-EGFP3-celler | 500669

Generel information

Description

NRK-Pom121-EGFP3-cellelinjen stammer fra normale rotnyreceller (NRK) og er genetisk konstrueret til at udtrykke Pom121-EGFP3-fusionsproteinet. Pom121 er et transmembrant nukleoporin, der er en integreret del af kerneporekomplekset (NPC) og spiller en afgørende rolle i opbygningen af kernekappen og NPC's funktion. Inkluderingen af det forstærkede grønne fluorescerende protein (EGFP3)-tag letter visualiseringen og undersøgelsen af Pom121-dynamik, lokalisering og interaktioner i levende celler gennem fluorescensmikroskopi. Dette gør NRK-Pom121-EGFP3-cellelinjen til et værdifuldt værktøj til undersøgelse af nukleare transportmekanismer og NPC-arkitektur.

NRK-celler, forældrelinjen til NRK-Pom121-EGFP3, bruges ofte i forskellige forskningsapplikationer på grund af deres stabile vækstegenskaber og epitel morfologi. Modifikationen til at udtrykke Pom121-EGFP3 giver forskere en robust model til at undersøge de molekylære mekanismer, der ligger til grund for nukleocytoplasmatiske transport, den strukturelle organisering af NPC og dens regulering under celledeling og differentiering. Derudover kan denne cellelinje bruges til at undersøge virkningerne af forskellige genetiske og farmakologiske forstyrrelser på NPC-funktionen, hvilket giver indsigt i sygdomme, der er forbundet med nukleare transportdefekter, såsom kræft og neurodegenerative lidelser.

Samlet set repræsenterer NRK-Pom121-EGFP3-cellelinjen et sofistikeret værktøj inden for cellebiologi og molekylær forskning, der giver indsigt i høj opløsning i de dynamiske processer, der styrer nukleocytoplasmatiske interaktioner. Dens evne til at tillade realtidsobservation af NPC-komponenter i en levende cellulær kontekst gør den uvurderlig til at fremme vores forståelse af cellulære transportmekanismer og deres implikationer i sundhed og sygdom.

Organism Rotte

Tissue Nyre

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

Karakteristika

Breed/Subspecies OsborneMendel

Morphology Fibroblastlignende celler med fusiform form

Growth properties Monolag, klæbende

Regulatoriske data

Citation NRK-Pom121-EGFP3 (Cytion katalognummer 500669)

NRK-Pom121-EGFP3-celler | 500669

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10116
CellosaurusAccession	CVCL_AV96
Depositor	Ellenberg-laboratoriet (EMBL)

Biomolekylære data

Receptors expressed	Epidermal vækstfaktor (EGF), multiplikationsstimulerende aktivitet (MSA)
Protein expression	Pom121-EGFP3: Placering/gen: 1..589 / Pcmv, 653..4250 / Pom121, 4251..4287 / null, 4318..6546 / 3EGFP, 7780..8574 / KanR/NeoR
Products	Epidermal vækstfaktor (EGF), multiplikationsstimulerende aktivitet (MSA), POM121, Transmembran, Nucleoporin, CMV Promotor, Neomycin, Phosphotransferase

Håndtering

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glukose, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)
Supplements	Suppler mediet med 10% FBS, 0,5 mg/mL G418

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

Subculturing Kassér det gamle medium, og vask cellerne med PBS. Tilsæt en frisklavet 0,025 % trypsin/0,02 % EDTA-opløsning, der er opvarmet til 37 grader Celsius, og vent, indtil cellerne løsner sig, hvilket normalt tager ca. 5 minutter. Neutraliser trypsinen ved at tilsætte frisk medium, overfør derefter celleblandingen til et rør og centrifuger. Efter centrifugering fjernes supernatanten, cellepelleten resuspenderes i frisk dyrkningsmedium, og suspensionen overføres til nye kolber. Tilsæt G418 til dyrkningsmediet for at opnå en endelig koncentration på 0,5 mg/ml

Seeding density	2 til 4 x 10 ⁴ celler/cm ²
------------------------	--

Fluid renewal	2 til 3 gange om ugen
----------------------	-----------------------

NRK-Pom121-EGFP3-celler | 500669

Freeze medium

Som kryopræservationsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryoinduceret stress.

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tør is for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befugtet atmosfære.

Flask Coating

For at opnå optimal vedhæftning og levedygtighed efter optøning anbefaler vi at bruge **kollagenbelagte kolber eller plader**.

NRK-Pom121-EGFP3-celler | 500669

Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturene daglige visuelle inspektioner.