

NRK-EGFP2-Nup50-Zellen | 500726

Allgemeine Informationen

Description

Die NRK-EGFP2-Nup50-Zelllinie ist eine klonale stabile Zelllinie, die aus normalen Rattennierenzellen (NRK) gewonnen wird. Diese Zelllinie wurde durch Transfektion eines zirkulären Plasmids erzeugt, das das Gen für das Fusionsprotein aus Enhanced Green Fluorescent Protein (EGFP) und Nucleoporin 50 (Nup50) enthält, gefolgt von einer Selektion auf Arzneimittelresistenz. Infolgedessen exprimieren etwa 50 % der Zellen das EGFP3-Nup50-Fusionsprotein, was die Visualisierung und Verfolgung von Nup50 in der zellulären Umgebung ermöglicht.

Nup50 ist ein wichtiger Bestandteil des Kernporenkomplexes, der den Transport von Molekülen zwischen dem Zellkern und dem Zytoplasma reguliert. Der EGFP3-Tag ermöglicht die Bildgebung in lebenden Zellen und andere fluoreszenzbasierte Techniken zur Untersuchung der Lokalisierung, Dynamik und Interaktionen von Nup50. Obwohl es sich um eine stabile Zelllinie handelt, weisen die NRK-EGFP2-Nup50-Zellen eine gewisse Variabilität auf, was auf eine unterschiedliche Expression des EGFP3-Nup50-Fusionsproteins in den Zellen hinweist.

Diese Zelllinie ist besonders wertvoll für die Erforschung des nukleozytoplasmatischen Transports, der Dynamik des Kernporenkomplexes und der funktionellen Rolle von Nup50 in verschiedenen zellulären Prozessen. Die NRK-EGFP2-Nup50-Zellen eignen sich für eine Reihe von experimentellen Ansätzen, darunter die Fluoreszenzerholung nach Photobleichung (FRAP), die Fluoreszenzkorrelationsspektroskopie (FCS) und andere fortschrittliche Mikroskopietechniken. Diese Studien können Einblicke in die molekularen Mechanismen des Kerntransports geben und zum Verständnis von Krankheiten beitragen, die mit einer Störung des Kerntransports einhergehen, wie z. B. bestimmte Krebserkrankungen und neurodegenerative Störungen.

Organism Ratte

Tissue Niere

Synonyms NRK EGFP2-Nup50

Merkmale

Breed/Subspecies OsborneMendel

Morphology Fibroblastenähnliche Zellen mit fusiformer Form

Growth properties Monolayer, haftend

Regulatorische Daten

Citation NRK-EGFP2-Nup50 (Cytion-Katalognummer 500726)

Biosafety level 1

NRK-EGFP2-Nup50-Zellen | 500726

NCBI_TaxID 10116**CellosaurusAccession** CVCL_AV93**Depositor** Das Ellenberg-Labor (EMBL)**Biomolekulare Daten****Receptors expressed** Epidermaler Wachstumsfaktor (EGF), Multiplikationsstimulierende Aktivität (MSA)**Protein expression** EGFP3-Nup50**Products** NUP50 (Nukleoporin 50)**Handhabung****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L Glucose, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM Natriumpyruvat (Cytion-Artikelnummer 820300a)**Supplements** Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS, 0,5 mg/mL G418**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Verwerfen Sie das alte Medium und waschen Sie die Zellen mit PBS. Geben Sie eine frisch zubereitete, auf 37 Grad Celsius erhitzte 0,025%ige Trypsin/0,02%ige EDTA-Lösung hinzu und warten Sie, bis sich die Zellen ablösen, was in der Regel etwa 5 Minuten dauert. Neutralisieren Sie das Trypsin durch Zugabe von frischem Medium, überführen Sie das Zellgemisch in ein Röhrchen und zentrifugieren Sie es. Nach der Zentrifugation den Überstand abnehmen, das Zellpellet in frischem Kulturmedium resuspendieren und die Suspension in neue Kolben überführen. G418 in das Kulturmedium einbringen, um eine Endkonzentration von 0,5 mg/ml zu erreichen**Split ratio** Empfohlen wird ein Verhältnis von 1:3 bis 1:4**Seeding density** 2 bis 4 x 10⁴ Zellen/cm²**Fluid renewal** 2 bis 3 Mal pro Woche

NRK-EGFP2-Nup50-Zellen | 500726

Freeze medium

Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

Thawing and Culturing Cells

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei $300 \times g$, um die Zellen abzutrennen, und werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhären Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , befeuchtete Atmosphäre.

Flask Coating

Keine

Freezing Procedure

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

NRK-EGFP2-Nup50-Zellen | 500726

Shipping Conditions

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Storage Conditions

Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Qualitätskontrolle / Genetisches Profil / HLA

Sterility

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.

Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.