

NRK-Pom121-EGFP3-Zellen | 500669

Allgemeine Informationen

Description

Die NRK-Pom121-EGFP3-Zelllinie stammt von normalen Rattennierenzellen (NRK) und wurde gentechnisch so verändert, dass sie das Fusionsprotein Pom121-EGFP3 exprimiert. Pom121 ist ein Transmembran-Nukleoporin, das ein integraler Bestandteil des Kernporenkomplexes (NPC) ist und eine entscheidende Rolle beim Aufbau der Kernhülle und der Funktion des NPC spielt. Die Aufnahme des EGFP3-Tags (Enhanced Green Fluorescent Protein) erleichtert die Visualisierung und Untersuchung der Dynamik, Lokalisierung und Interaktionen von Pom121 in lebenden Zellen durch Fluoreszenzmikroskopie. Dies macht die NRK-Pom121-EGFP3-Zelllinie zu einem wertvollen Werkzeug für die Untersuchung von Kerntransportmechanismen und der NPC-Architektur.

NRK-Zellen, die Elternlinie von NRK-Pom121-EGFP3, werden aufgrund ihrer stabilen Wachstumseigenschaften und epithelialen Morphologie häufig in verschiedenen Forschungsanwendungen eingesetzt. Die Modifikation zur Expression von Pom121-EGFP3 bietet Forschern ein robustes Modell zur Untersuchung der molekularen Mechanismen, die dem nukleozytoplasmatischen Transport, der strukturellen Organisation des NPC und seiner Regulierung während der Zellteilung und -differenzierung zugrunde liegen. Darüber hinaus kann diese Zelllinie verwendet werden, um die Auswirkungen verschiedener genetischer und pharmakologischer Störungen auf die NPC-Funktion zu untersuchen, was Einblicke in Krankheiten ermöglicht, die mit Defekten des Kerntransports einhergehen, wie Krebs und neurodegenerative Erkrankungen.

Insgesamt stellt die NRK-Pom121-EGFP3-Zelllinie ein hochentwickeltes Werkzeug für die Zellbiologie und die Molekularforschung dar, das hochauflösende Einblicke in die dynamischen Prozesse gewährt, die die nukleozytoplasmatischen Interaktionen steuern. Ihre Fähigkeit, NPC-Komponenten in Echtzeit in einem lebenden zellulären Kontext zu beobachten, macht sie von unschätzbarem Wert für ein besseres Verständnis der zellulären Transportmechanismen und ihrer Auswirkungen auf Gesundheit und Krankheit.

Organism Ratte

Tissue Niere

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

Merkmale

Breed/Subspecies OsborneMendel

Morphology Fibroblastenähnliche Zellen mit fusiformer Form

Growth properties Monolayer, haftend

Regulatorische Daten

Citation NRK-Pom121-EGFP3 (Cytion-Katalognummer 500669)

NRK-Pom121-EGFP3-Zellen | 500669

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

Biomolekulare Daten

Receptors expressed	Epidermaler Wachstumsfaktor (EGF), Multiplikationsstimulierende Aktivität (MSA)
Protein expression	Pom121-EGFP3: Ort/Gen: 1..589 / Pcmv, 653..4250 / Pom121, 4251..4287 / null, 4318..6546 / 3EGFP, 7780..8574 / KanR/NeoR
Products	Epidermaler Wachstumsfaktor (EGF), Multiplikationsstimulierende Aktivität (MSA), POM121, Transmembran, Nucleoporin, CMV Promotor, Neomycin, Phosphotransferase

Handhabung

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L Glucose, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , 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-Pom121-EGFP3-Zellen | 500669

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 adhärennten 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-Pom121-EGFP3-Zellen | 500669

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.

STR-Profil

Rat_D1Wox31: 96,1
Rat_D2Wox37: 156
Rat_D19Wox11: 220
Rat_D10Wox8: 266,27
Rat_D4Wox7: 153,157
Rat_D2Wox27: 211
Rat_D5Rat33: 116,138
Rat_D10Wox11: 156
Rat_D1Wox23: 210,214
Rat_D12Wox1: 402,406
Rat_D6Wox2: 104,124
Rat_D8Wox7: 185
Rat_D6Cebr1: 221,233
SRY: x,Y