

NRK-Pom121-EGFP3-cellen | 500669

Algemene informatie

Description

De NRK-Pom121-EGFP3 cellijn is afgeleid van normale rattencellen (NRK) en is genetisch gemanipuleerd om het Pom121-EGFP3 fusie-eiwit tot expressie te brengen. Pom121 is een transmembraan nucleoporine dat een integraal onderdeel is van het nucleaire poriëncomplex (NPC) en een cruciale rol speelt in de assemblage van de nucleaire envelop en de functie van het NPC. De toevoeging van het verbeterd groen fluorescerend eiwit (EGFP3) vergemakkelijkt de visualisatie en studie van Pom121 dynamica, lokalisatie en interacties binnen levende cellen door middel van fluorescentiemicroscopie. Dit maakt de NRK-Pom121-EGFP3 cellijn een waardevol hulpmiddel voor het onderzoeken van nucleaire transportmechanismen en NPC architectuur.

NRK-cellen, de ouderlijn van NRK-Pom121-EGFP3, worden vaak gebruikt in verschillende onderzoekstoepassingen vanwege hun stabiele groeikenmerken en epitheliale morfologie. De modificatie om Pom121-EGFP3 tot expressie te brengen biedt onderzoekers een robuust model om de moleculaire mechanismen die ten grondslag liggen aan nucleocytoplasmatisch transport, de structurele organisatie van de NPC en de regulatie ervan tijdens celdeling en differentiatie te onderzoeken. Daarnaast kan deze cellijn gebruikt worden om de effecten van verschillende genetische en farmacologische verstoringen op de NPC-functie te bestuderen, wat inzicht geeft in ziekten die geassocieerd worden met nucleaire transportdefecten, zoals kanker en neurodegeneratieve aandoeningen.

Over het geheel genomen is de NRK-Pom121-EGFP3 cellijn een geavanceerd instrument in de celbiologie en moleculair onderzoek, dat hogeresolutie inzichten geeft in de dynamische processen die nucleocytoplasmatische interacties sturen. De mogelijkheid om NPC componenten in real-time te observeren in een levende cellulaire context maakt het van onschatbare waarde voor het bevorderen van ons begrip van cellulaire transportmechanismen en hun implicaties in gezondheid en ziekte.

Organism Rat

Tissue Nieren

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

Kenmerken

Breed/Subspecies OsborneMendel

Morphology Fibroblast-achtige cellen met spoelvormige vorm

Growth properties Monolaag, adherent

Regelgevende gegevens

Citation NRK-Pom121-EGFP3 (Cytion catalogusnummer 500669)

NRK-Pom121-EGFP3-cellen | 500669

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 10116**CellosaurusAccession** CVCL_AV96**Depositor** Het Ellenberg Lab (EMBL)**Biomoleculaire gegevens****Receptors expressed** Epidermale groeifactor (EGF), vermeerderingsstimulerende activiteit (MSA)**Protein expression** Pom121-EGFP3: Locatie/gen: 1..589 / Pcmv, 653..4250 / Pom121, 4251..4287 / null, 4318..6546 / 3EGFP, 7780..8574 / KanR/NeoR**Products** Epidermale groeifactor (EGF), Vermenigvuldigingsstimulerende activiteit (MSA), POM121, Transmembraan, Nucleoporeine, CMV Promotor, Neomycine, Fosfotransferase**Omgaan met****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L Glucose, w: 4 mM L-Glutamine, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM Natriumpyruvaat (Cytion artikelnummer 820300a)**Supplements** Vul het medium aan met 10% FBS, 0,5 mg/mL G418**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Gooi het oude medium weg en was de cellen met PBS. Voeg een vers bereide 0,025% trypsine/0,02% EDTA-oplossing verwarmd tot 37 graden Celsius toe en wacht tot de cellen loskomen, wat meestal ongeveer 5 minuten duurt. Neutraliseer de trypsine door vers medium toe te voegen, breng het celmengsel over naar een buis en centrifugeer. Verwijder na het centrifugeren het supernatant, resuspendeer de celpellet in vers kweekmedium en breng de suspensie over naar nieuwe kolven. Voeg G418 toe aan het kweekmedium om een eindconcentratie van 0,5 mg/ml te bereiken**Split ratio** Een verhouding van 1:3 tot 1:4 wordt aanbevolen**Seeding density** 2 tot 4 x 10⁴ cellen/cm²**Fluid renewal** 2 tot 3 keer per week

NRK-Pom121-EGFP3-cellen | 500669

Freeze medium

Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimeidium (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij $300 \times g$ om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Geen

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

NRK-Pom121-EGFP3-cellen | 500669

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.

STR profiel

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