

NRK-Pom121-EGFP3-celler | 500669

Generell informasjon

Description

NRK-Pom121-EGFP3-cellelinjen er avledet fra normale rottenyreceller (NRK) og er genetisk konstruert for å uttrykke fusjonsproteinene Pom121-EGFP3. Pom121 er et transmembran nukleoporin som er en integrert komponent i kjerneporkomplekset (NPC), og som spiller en avgjørende rolle i oppbyggingen av kjerneskjoldet og NPC-funksjonen. Inkluderingen av EGFP3-taggen (Enhanced Green Fluorescent Protein) gjør det enklere å visualisere og studere Pom121s dynamikk, lokalisering og interaksjoner i levende celler ved hjelp av fluorescensmikroskopi. Dette gjør NRK-Pom121-EGFP3-cellelinjen til et verdifullt verktøy for å undersøke nukleære transportmekanismer og NPC-arkitektur.

NRK-celler, som er foreldrelinjen til NRK-Pom121-EGFP3, brukes ofte i ulike forskningsapplikasjoner på grunn av sine stabile vekstegenskaper og epitel morfologi. Modifiseringen til å uttrykke Pom121-EGFP3 gir forskere en robust modell for å undersøke de molekylære mekanismene som ligger til grunn for nukleocytoplasmatiske transport, den strukturelle organiseringen av NPC og dens regulering under celledeling og differensiering. I tillegg kan denne cellelinjen brukes til å studere effekten av ulike genetiske og farmakologiske forstyrrelser på NPC-funksjonen, noe som gir innsikt i sykdommer som er forbundet med nukleærtransportdefekter, for eksempel kreft og nevrodegenerative lidelser.

Alt i alt representerer NRK-Pom121-EGFP3-cellelinjen et sofistikert verktøy innen cellebiologi og molekylær forskning, som gir høyoppløselig innsikt i de dynamiske prosessene som styrer nukleocytoplasmatiske interaksjoner. Muligheten til å observere NPC-komponenter i sanntid i en levende cellulær kontekst gjør den uvurderlig for å øke vår forståelse av cellulære transportmekanismer og deres betydning for helse og sykdom.

Organism Rotte

Tissue Nyre

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

Kjennetegn

Breed/Subspecies OsborneMendel

Morphology Fibroblastlignende celler med fusiform form

Growth properties Monolag, vedheftende

Regulatoriske data

Citation NRK-Pom121-EGFP3 (Cytion katalognummer 500669)

Biosafety level 1

NRK-Pom121-EGFP3-celler | 500669

NCBI_TaxID 10116**CellosaurusAccession** CVCL_AV96**Depositor** Ellenberg-laboratoriet (EMBL)**Biomolekylære data****Receptors expressed** Epidermal vekstfaktor (EGF), multiplikasjonsstimulerende aktivitet (MSA)**Protein expression** Pom121-EGFP3: Beliggenhet/Gen: 1..589 / Pcmv, 653..4250 / Pom121, 4251..4287 / null, 4318..6546 / 3EGFP, 7780..8574 / KanR/NeoR**Products** Epidermal vekstfaktor (EGF), multiplikasjonsstimulerende aktivitet (MSA), POM121, transmembran, nukleoporin, CMV-promotor, neomycin, fosfotransferase**Håndtering****Culture Medium** DMEM, m: 4,5 g/L glukose, m: 4 mM L-glutamin, m: 3,7 g/L NaHCO₃, m: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikkelnummer 820300a)**Supplements** Suppler mediet med 10 % FBS, 0,5 mg/mL G418**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Kast det gamle mediet, og vask cellene med PBS. Tilsett en nytilberedt 0,025 % trypsin/0,02 % EDTA-løsning oppvarmet til 37 grader Celsius, og vent til cellene løsner, noe som vanligvis tar ca. 5 minutter. Nøytraliser trypsinet ved å tilsette nytt medium, og overfør deretter celleblandingen til et rør og sentrifuger. Etter sentrifugering fjerner du supernatanten, resuspenderer cellepelleten i nytt dyrkningsmedium og overfører suspensjonen til nye kolber. Tilsett G418 i dyrkningsmediet for å oppnå en sluttkonsentrasjon på 0,5 mg/ml**Split ratio** Et forhold på 1:3 til 1:4 anbefales**Seeding density** 2 til 4 x 10⁴ celler/cm²**Fluid renewal** 2 til 3 ganger per uke**Freeze medium** Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter optining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoundusert stress.

NRK-Pom121-EGFP3-celler | 500669

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

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

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

NRK-Pom121-EGFP3-celler | 500669

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.

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