

NRK-Pom121-EGFP3-celler | 500669

Allmän information

Description

Cellinjen NRK-Pom121-EGFP3 härrör från normala råttnjurceller (NRK) och är genetiskt modifierad för att uttrycka fusionsproteinet Pom121-EGFP3. Pom121 är en transmembran nukleoporin som är en integrerad komponent i kärnporskomplexet (NPC) och spelar en avgörande roll för kärnhöljets sammansättning och NPC:s funktion. Inkluderingen av EGFP3-taggen (Enhanced Green Fluorescent Protein) underlättar visualisering och studier av Pom121:s dynamik, lokalisering och interaktioner i levande celler genom fluorescensmikroskopi. Detta gör NRK-Pom121-EGFP3-cellinjen till ett värdefullt verktyg för att undersöka mekanismer för kärntransport och NPC-arkitektur.

NRK-celler, föräldralinjen till NRK-Pom121-EGFP3, används ofta i olika forskningsapplikationer på grund av sina stabila tillväxtegenskaper och epitelmorfologi. Modifieringen för att uttrycka Pom121-EGFP3 ger forskare en robust modell för att undersöka de molekylära mekanismer som ligger till grund för nukleocytoplasmisk transport, den strukturella organisationen av NPC och dess reglering under celldelning och differentiering. Dessutom kan denna cellinje användas för att studera effekterna av olika genetiska och farmakologiska störningar på NPC-funktionen, vilket ger insikter om sjukdomar som är förknippade med kärntransportdefekter, såsom cancer och neurodegenerativa sjukdomar.

Sammantaget utgör cellinjen NRK-Pom121-EGFP3 ett sofistikerat verktyg inom cellbiologi och molekylär forskning, som ger högupplösta insikter i de dynamiska processer som styr nukleocytoplasmiska interaktioner. Dess förmåga att möjliggöra realtidsobservation av NPC-komponenter i ett levande cellulärt sammanhang gör den ovärderlig för att främja vår förståelse av cellulära transportmekanismer och deras konsekvenser för hälsa och sjukdom.

Organism

Råtta

Tissue

Njurar

Synonyms

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

Egenskaper

Breed/Subspecies

OsborneMendel

Morphology

Fibroblastliknande celler med fusiform form

Growth properties

Monolager, vidhäftande

Lagstadgade uppgifter

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)

Biomolekylära data

Receptors expressed	Epidermal tillväxtfaktor (EGF), multiplikationsstimulerande aktivitet (MSA)
Protein expression	Pom121-EGFP3: Plats/Gen: 1..589 / Pcmv, 653..4250 / Pom121, 4251..4287 / null, 4318..6546 / 3EGFP, 7780..8574 / KanR/NeoR
Products	Epidermal tillväxtfaktor (EGF), multiplikationsstimulerande aktivitet (MSA), POM121, transmembran, nukleoporin, CMV-promotor, neomycin, fosfotransferas

Hantering

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glukos, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)
-----------------------	--

Supplements	Komplettera mediet med 10% FBS, 0,5 mg/ml G418
--------------------	--

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

Subculturing	Kassera det gamla mediet och tvätta cellerna med PBS. Tillsätt en nyberedd 0,025% trypsin/0,02% EDTA-lösning som värmts upp till 37 grader Celsius och vänta tills cellerna lossnar, vilket vanligtvis tar cirka 5 minuter. Neutralisera trypsinet genom att tillsätta färskt medium, överför sedan cellblandningen till ett rör och centrifugera. Efter centrifugeringen avlägsnas supernatanten, cellpelleten resuspenderas i färskt odlingsmedium och suspensionen överförs till nya kolvar. Tillsätt G418 i odlingsmediet för att uppnå en slutlig koncentration på 0,5 mg/ml
---------------------	---

Split ratio	Ett förhållande på 1:3 till 1:4 rekommenderas
--------------------	---

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

Fluid renewal	2 till 3 gånger per vecka
----------------------	---------------------------

NRK-Pom121-EGFP3-celler | 500669

Freeze medium

Som kryokonserveringsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfrysad vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeshuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid $300 \times g$ i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkanter; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befuktad atmosfär.

Flask Coating

För optimal vidhäftning och viabilitet efter upptining rekommenderar vi att **kollagenbelagda kolvar eller plattor** används.

NRK-Pom121-EGFP3-celler | 500669

Freezing Procedure

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överförs till lämplig förvaring.

Shipping Conditions

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överförs till lämplig förvaring.

Storage Conditions

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasma kontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasma diagnostik.

För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.

STR-profil

Rat_D1Wox31: 96,100
Rat_D2Wox37: 156
Rat_D19Wox11: 220
Rat_D10Wox8: 266,270
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