NRK-EGFP2-Nup50

500726

GENERELLE OPLYSNINGER

Beskrivelse

NRK-EGFP2-Nup50-cellelinjen er en klonal stabil cellelinje, der stammer fra normale rottenyreceller (NRK). Denne cellelinje blev genereret gennem transfektion af et cirkulært plasmid, der indeholder genet, der koder for fusionsproteinet Enhanced Green Fluorescent Protein (EGFP) og Nucleoporin 50 (Nup50), efterfulgt af selektion af lægemiddelresistens. Resultatet er, at ca. 50 % af cellerne udtrykker EGFP3-Nup50-fusionsproteinet, hvilket gør det muligt at visualisere og spore Nup50 i det cellulære miljø.
Nup50 er en kritisk komponent i kerneporekomplekset, som er ansvarlig for at regulere transporten af molekyler mellem kernen og cytoplasmaet. EGFP3-tagget giver mulighed for levende cellebilleder og andre fluorescensbaserede teknikker til at studere lokalisering, dynamik og interaktioner af Nup50. På trods af at det er en stabil cellelinje, udviser NRK-EGFP2-Nup50-cellerne en vis variation, hvilket indikerer variabilitet i ekspressionsniveauerne af EGFP3-Nup50-fusionsproteinet blandt cellerne.
Denne cellelinje er særlig værdifuld til forskning med fokus på nukleocytoplasmatisk transport, kerneporekompleksets dynamik og Nup50's funktionelle rolle i forskellige cellulære processer. NRK-EGFP2-Nup50-cellerne er velegnede til en række eksperimentelle tilgange, herunder fluorescensgenvinding efter fotoblegning (FRAP), fluorescenskorrelationsspektroskopi (FCS) og andre avancerede mikroskopiteknikker. Disse undersøgelser kan give indsigt i de molekylære mekanismer i nuklear transport og bidrage til forståelsen af sygdomme, der er forbundet med dysfunktion i nuklear transport, såsom visse kræftformer og neurodegenerative lidelser.

Væv	Nyre

Synonymer

- NRK EGFP2-Nup50

KLASSIFICERING

Organisme	Rotte
Vækstegenskaber	Tilhænger
Biosikkerhedsniveau	1

EGENSKABER

Morfologi	Fibroblastlignende celler med fusiform form

IDENTIFIKATORER

Kildehenvisning

NRK-EGFP2-Nup50 (Cytion katalognummer 500726)

NCBI-skattenummer	10116
Cellosaurus	CVCL_AV93
Indskyder	Ellenberg-laboratoriet (EMBL)

UDTRYK OG MODTAGELIGHED

Udtrykte receptorer

Epidermal vækstfaktor (EGF), multiplikationsstimulerende aktivitet (MSA)

Proteinekspression

EGFP3-Nup50

Produkter

NUP50 (nukleoporin 50)

HÅNDTERING OG OPDRÆT

Næringsmedium

DMEM, w: 4,5 g/L glukose, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)

Inkubationsatmosfære	37°C, 5%CO2, befugtet atmosfære.

Kosttilskud

Suppler mediet med 10% FBS, 0,5 mg/mL G418

Dissociationsreagens	Accutase

Oddyrkning

Kassér det gamle medium, og vask cellerne med PBS. Tilsæt en frisklavet 0,025 % trypsin/0,02 % EDTA-opløsning, der er opvarmet til 37 grader Celsius, og vent, indtil cellerne løsner sig, hvilket normalt tager ca. 5 minutter. Neutraliser trypsinen ved at tilsætte frisk medium, overfør derefter celleblandingen til et rør og centrifuger. Efter centrifugering fjernes supernatanten, cellepelleten resuspenderes i frisk dyrkningsmedium, og suspensionen overføres til nye kolber. Tilsæt G418 til dyrkningsmediet for at opnå en endelig koncentration på 0,5 mg/ml

Såtæthed	2 til 4 x 10^4 celler/cm^2
Væskeudskiftning	2 til 3 gange om ugen

Optøning og dyrkning

Confirm that the vial remains deeply frozen upon delivery, as cells are shipped on dry ice to maintain optimal temperatures during transit.
Upon receipt, either store the cryovial immediately at temperatures below -150°C to ensure the preservation of cellular integrity, or proceed to step 3 if immediate culturing is required.
For immediate culturing, swiftly thaw the vial by immersing it in a 37°C water bath with clean water and an antimicrobial agent, agitating gently for 40-60 seconds until a small ice clump remains.
Perform all subsequent steps under sterile conditions in a flow hood, disinfecting the cryovial with 70% ethanol before opening.
Carefully open the disinfected vial and transfer the cell suspension into a 15 ml centrifuge tube containing 8 ml of room-temperature culture medium, mixing gently.
Centrifuge the mixture at 300 x g for 3 minutes to separate the cells and carefully discard the supernatant containing residual freezing medium.
Gently resuspend the cell pellet in 10 ml of fresh culture medium. For adherent cells, divide the suspension between two T25 culture flasks; for suspension cultures, transfer all the medium into one T25 flask to promote effective cell interaction and growth.
Adhere to established subculture protocols for continued growth and maintenance of the cell line, ensuring reliable experimental outcomes.

KVALITETSKONTROL OG KRYOPRÆSERVERING

Sterilitet

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder. For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.

Frysemedium	Som kryopræserveringsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.

Opbevaringsbetingelser

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Leveringsbetingelser

Kryopræserverede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

DONOR

Race / underart	OsborneMendel

JURIDISKE FORHOLD OG SIKKERHED

Sikkerhedsforanstaltninger

Når man planlægger at opbevare et kryovæske i flydende nitrogen med henblik på fremtidig optøning, er det obligatorisk at overholde strenge sikkerhedsforanstaltninger. Passende beskyttelseshandsker og -tøj er afgørende, og der skal bruges ansigtsmaske eller sikkerhedsbriller under overførslen af frosne prøver til eller fra tanken med flydende nitrogen. Dette er for at mindske risikoen for skader fra potentielle kryovæskeeksplosioner ved fjernelse, som kan resultere i projektion af skarpe fragmenter.

Ansvarsfraskrivelse

Vores celler leveres udelukkende til in vitro-laboratorieforskningsformål og er ikke beregnet til klinisk eller diagnostisk brug, og de må heller ikke administreres til mennesker eller bruges til veterinære formål. Brugere skal overholde alle gældende retningslinjer og regler for håndtering og brug af disse celler i en forskningsmæssig sammenhæng.

Garanti

Hos Cytіon står vi inde for vores produkters kvalitet og levedygtighed.
Vi garanterer, at vores celler vil være levedygtige ved kulturens start i 60 dage efter afsendelse fra vores faciliteter.
Vi sikrer, at alle materialer er i overensstemmelse med de specifikationer, der er beskrevet i analysecertifikatet og/eller produktarket
For alle detaljer henvises til vores <a href="”/Who-we-are/Warranty/”" hreflang="”x-default”">Garantierklæring

Der gælder aftaler med tredjeparter	Yes