NRK-EGFP2-Nup50

500726

ALGEMENE INFORMATIE

Beschrijving

De NRK-EGFP2-Nup50 cellijn is een klonale stabiele cellijn afgeleid van normale rattenniercellen (NRK). Deze cellijn werd gegenereerd door transfectie van een circulair plasmide dat het gen bevat dat codeert voor het fusie-eiwit van Enhanced Green Fluorescent Protein (EGFP) en Nucleoporine 50 (Nup50), gevolgd door selectie op resistentie tegen geneesmiddelen. Als gevolg hiervan brengt ongeveer 50% van de cellen het fusie-eiwit EGFP3-Nup50 tot expressie, waardoor Nup50 in de cellulaire omgeving kan worden gevisualiseerd en gevolgd.
Nup50 is een essentieel onderdeel van het nucleaire porecomplex, dat verantwoordelijk is voor het reguleren van het transport van moleculen tussen de kern en het cytoplasma. De EGFP3-tag maakt live-cell imaging en andere op fluorescentie gebaseerde technieken mogelijk om de lokalisatie, dynamiek en interacties van Nup50 te bestuderen. Ondanks het feit dat het een stabiele cellijn is, vertonen de NRK-EGFP2-Nup50 cellen enige variatie, wat duidt op variabiliteit in de expressieniveaus van het fusie-eiwit EGFP3-Nup50 tussen de cellen.
Deze cellijn is bijzonder waardevol voor onderzoek gericht op nucleocytoplasmatisch transport, dynamica van het nucleaire poriecomplex en de functionele rol van Nup50 in verschillende cellulaire processen. De NRK-EGFP2-Nup50-cellen zijn geschikt voor een reeks experimentele benaderingen, waaronder fluorescentieherstel na fotobleaching (FRAP), fluorescentiecorrelatiespectroscopie (FCS) en andere geavanceerde microscopietechnieken. Deze studies kunnen inzicht verschaffen in de moleculaire mechanismen van nucleair transport en bijdragen aan het begrip van ziekten die geassocieerd worden met disfunctioneren van nucleair transport, zoals bepaalde vormen van kanker en neurodegeneratieve aandoeningen.

Weefsel	Nieren

Synoniemen

- NRK EGFP2-Nup50

CLASSIFICATIE

Organisme	Rat
Groei-eigenschappen	Aanhanger
Bioveiligheidsniveau	1

KENMERKEN

Morfologie	Fibroblast-achtige cellen met spoelvormige vorm

IDENTIFICATIEGEGEVENS

Bronvermelding

NRK-EGFP2-Nup50 (Cytion catalogusnummer 500726)

NCBI-belastingnummer	10116
Cellosaurus	CVCL_AV93
Inlegger	Het Ellenberg Lab (EMBL)

EXPRESSIE EN VATBAARHEID

Tot expressie gebrachte receptoren

Epidermale groeifactor (EGF), vermeerderingsstimulerende activiteit (MSA)

Eiwit-expressie

EGFP3-Nup50

Producten

NUP50 (Nucleoporine 50)

BEHANDELING EN KWEEK

Kweekmedium

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)

Incubatieomgeving	37°C, 5%CO2, bevochtigde atmosfeer.

Supplementen

Vul het medium aan met 10% FBS, 0,5 mg/mL G418

Dissociatiereagens	Accutase

Heruitplanten

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

Zaaidichtheid	2 tot 4 x 10^4 cellen/cm^2
Vloeistofverversing	2 tot 3 keer per week

Ontdooien en kweken

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.

KWALITEITSCONTROLE EN CRYOPRESERVATIE

Onvruchtbaarheid

Mycoplasmaverontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasmadetectiemethoden.
Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.

Kweekmedium invriezen	Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedium (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.

Opslagvoorwaarden

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.

Verzendvoorwaarden

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.

DONATEUR

Soort / ondersoort	OsborneMendel

JURIDISCHE EN VEILIGHEIDSASPECTEN

Veiligheidsmaatregelen

Wanneer men van plan is om een cryovial in vloeibare stikstof op te slaan om later te ontdooien, is het verplicht om strenge veiligheidsmaatregelen in acht te nemen. Passende beschermende handschoenen en kleding zijn essentieel en het gebruik van een gezichtsmasker of veiligheidsbril is vereist tijdens het overbrengen van bevroren monsters naar of uit de tank met vloeibare stikstof. Dit is om het risico op letsel door mogelijke cryoviale explosies bij het verwijderen te beperken, wat kan resulteren in de projectie van scherpe fragmenten.

Disclaimer

Onze cellen worden uitsluitend geleverd voor in vitro laboratoriumonderzoek en zijn niet bedoeld voor klinisch of diagnostisch gebruik, noch mogen ze worden toegediend aan mensen of worden gebruikt voor veterinaire doeleinden. Gebruikers moeten zich houden aan alle toepasselijke richtlijnen en voorschriften voor het hanteren en gebruiken van deze cellen in een onderzoeksomgeving.

Garantie

Bij Cytion staan we achter de kwaliteit en levensvatbaarheid van onze producten.
We garanderen dat onze cellen levensvatbaar zijn bij het begin van de kweek gedurende 60 dagen na verzending vanuit onze faciliteiten.
We verzekeren dat alle materialen voldoen aan de specificaties beschreven in het analysecertificaat en/of productblad
Raadpleeg voor volledige informatie onze <a href=""/Wie-zijn-wij/Garantie/"" hreflang=""x-default"">Garantieverklaring

Er gelden overeenkomsten met derden	Yes