

## Клетки NRK-Pom121-EGFP3 | 500669

### Обща информация

#### Description

Клетъчната линия NRK-Pom121-EGFP3 е получена от нормални плъши бъбречни клетки (NRK) и е генетично разработена да експресира фюжън протеина Pom121-EGFP3. Pom121 е трансмембранен нуклеопорин, който е интегрален компонент на комплекса на ядрените пори (NPC), играещ решаваща роля в сглобяването на ядрената обвивка и функцията на NPC. Включването на таг на зелен флуоресцентен протеин (EGFP3) улеснява визуализацията и изследването на динамиката, локализацията и взаимодействията на Pom121 в живи клетки чрез флуоресцентна микроскопия. Това прави клетъчната линия NRK-Pom121-EGFP3 ценен инструмент за изследване на механизмите на ядрения транспорт и архитектурата на NPC.

Клетките NRK, родителската линия на NRK-Pom121-EGFP3, често се използват в различни изследователски приложения поради стабилните си характеристики на растеж и епителна морфология. Модификацията за експресия на Pom121-EGFP3 предоставя на изследователите надежден модел за изследване на молекулярните механизми, които са в основата на нуклеоцитоплазмения транспорт, структурната организация на NPC и регулирането ѝ по време на клетъчното делене и диференциация. Освен това тази клетъчна линия може да се използва за изследване на ефектите на различни генетични и фармакологични смущения върху функцията на NPC, което предлага поглед върху заболявания, свързани с дефекти в ядрения транспорт, като рак и невродегенеративни разстройства.

Като цяло, клетъчната линия NRK-Pom121-EGFP3 представлява усъвършенстван инструмент в клетъчната биология и молекулярните изследвания, осигуряващ прозрения с висока резолюция за динамичните процеси, управляващи ядреноцитоплазмените взаимодействия. Способността ѝ да позволява наблюдение в реално време на компонентите на НПК в жив клетъчен контекст я прави безценна за подобряване на разбирането ни за механизмите на клетъчния транспорт и тяхното значение за здравето и болестите.

**Organism** Плъх

**Tissue** Бъбреци

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

### Характеристики

**Breed/Subspecies** OsborneMendel

**Morphology** Фибробластоподобни клетки с фузиформена форма

**Growth properties** Монослой, прилепнал

### Регулаторни данни

## Клетки NRK-Pom121-EGFP3 | 500669

<b>Citation</b>	NRK-Pom121-EGFP3 (каталожен номер 500669 на Cytion)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	10116
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_AV96
<b>Depositor</b>	Лабораторията на Елгънбърг (EMBL)

## Биомолекулярни данни

<b>Receptors expressed</b>	Епидермален растежен фактор (EGF), стимулираща мултипликацията активност (MSA)
<b>Protein expression</b>	Pom121-EGFP3: Местоположение/ген: 1..589 / Pcmv, 653..4250 / Pom121, 4251..4287 / null, 4318..6546 / 3EGFP, 7780..8574 / KanR/NeoR
<b>Products</b>	Епидермален растежен фактор (EGF), мултипликационна стимулираща активност (MSA), POM121, трансмембранен, нуклеопорин, CMV Promotor, неомицин, фосфотрансфераза

## Работа с

<b>Culture Medium</b>	DMEM, w: 4,5 g/L глюкоза, w: 4 mM L-глутамин, w: 3,7 g/L NaHCO <sub>3</sub> , w: 1,0 mM натриев пируват (номер на изделието на Cytion 820300a)
<b>Supplements</b>	Допълнете средата с 10% FBS, 0,5 mg/ml G418
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Subculturing</b>	Изхвърлете старата среда и промийте клетките с PBS. Добавете прясно приготвен 0,025% разтвор на трипсин/0,02% EDTA, загрят до 37 градуса по Целзий, и изчакайте, докато клетките се отделят, което обикновено отнема около 5 минути. Неутрализирайте трипсина, като добавите прясна среда, след което прехвърлете клетъчната смес в епруветка и центрофугирайте. След центрофугирането отстранете супернатантата, ресуспендирайте клетъчната пелета в прясна хранителна среда и прехвърлете суспензията в нови колби. Включете G418 в хранителната среда, за да достигнете крайна концентрация от 0,5 mg/ml
<b>Seeding density</b>	2 до 4 x 10 <sup>4</sup> клетки/cm <sup>2</sup>
<b>Fluid renewal</b>	2 до 3 пъти седмично

## Клетки NRK-Pom121-EGFP3 | 500669

### Freeze medium

Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

### Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикуробен агент с температура  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при  $300 \times g$  в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , овлажнена атмосфера.

### Flask Coating

За оптимално прикрепване и жизнеспособност след размразяване препоръчваме да се използват **колби или плаки с колагеново покритие**.

## Клетки NRK-Pom121-EGFP3 | 500669

### Freezing Procedure

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително  $-78^{\circ}\text{C}$  по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

### Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително  $-78^{\circ}\text{C}$  по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

### Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около  $-150$  до  $-196^{\circ}\text{C}$ . Съхранението при  $-80^{\circ}\text{C}$  е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

## Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

### Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.