

Buňky NRK-Pom121-EGFP3 | 500669**Obecné informace****Description**

Buněčná linie NRK-Pom121-EGFP3 je odvozena z normálních ledvinových buněk potkana (NRK) a je geneticky upravena tak, aby exprimovala fúzní protein Pom121-EGFP3. Pom121 je transmembránový nukleoporin, který je integrální součástí komplexu jaderných pórů (NPC) a hraje klíčovou roli při sestavování jaderného obalu a funkci NPC. Začlenění značky rozšířeného zeleného fluorescenčního proteinu (EGFP3) usnadňuje vizualizaci a studium dynamiky, lokalizace a interakcí Pom121 v živých buňkách pomocí fluorescenční mikroskopie. Díky tomu je buněčná linie NRK-Pom121-EGFP3 cenným nástrojem pro zkoumání mechanismů jaderného transportu a architektury NPC.

Buňky NRK, rodičovská linie NRK-Pom121-EGFP3, se běžně používají v různých výzkumných aplikacích díky svým stabilním růstovým vlastnostem a epitelální morfologii. Modifikace pro expresi Pom121-EGFP3 poskytuje výzkumníkům robustní model pro zkoumání molekulárních mechanismů, které jsou základem nukleocytoplazmatického transportu, strukturální organizace NPC a její regulace během buněčného dělení a diferenciace. Kromě toho lze tuto buněčnou linii použít ke studiu účinků různých genetických a farmakologických poruch na funkci NPC, což nabízí pohled na nemoci spojené s poruchami jaderného transportu, jako je rakovina a neurodegenerativní poruchy.

Celkově lze říci, že buněčná linie NRK-Pom121-EGFP3 představuje sofistikovaný nástroj v buněčné biologii a molekulárním výzkumu, který umožňuje nahlédnout s vysokým rozlišením do dynamických procesů řídicích nukleocytoplazmatické interakce. Její schopnost umožnit pozorování složek NPC v reálném čase v živém buněčném kontextu z ní činí neocenitelný nástroj pro lepší pochopení mechanismů buněčného transportu a jejich důsledků pro zdraví a nemoc.

Organism

Krysy

Tissue

Ledviny

Synonyms

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

Charakteristika**Breed/Subspecies**

OsborneMendel

Morphology

Fibroblastům podobné buňky s fusiformním tvarem

Growth properties

Monovrstva, adherentní

Regulační údaje**Citation**

NRK-Pom121-EGFP3 (katalogové číslo Cytion 500669)

Buňky NRK-Pom121-EGFP3 | 500669

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 10116**CellosaurusAccession** CVCL_AV96**Depositor** Ellenbergova laboratoř (EMBL)**Biomolekulární data****Receptors expressed** Epidermální růstový faktor (EGF), multiplikační stimulační aktivita (MSA)**Protein expression** Pom121-EGFP3: Umístění/geny: 1..589 / Pcmv, 653..4250 / Pom121, 4251..4287 / null, 4318..6546 / 3EGFP, 7780..8574 / KanR/NeoR**Products** Epidermální růstový faktor (EGF), multiplikační stimulační aktivita (MSA), POM121, transmembrána, nukleoporin, CMV promotor, neomycin, fosfotransferáza**Zpracování****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutaminu, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)**Supplements** Doplněte médium 10% FBS, 0,5 mg/ml G418**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Staré médium zlikvidujte a buňky promyjte PBS. Přidejte čerstvě připravený 0,025% roztok trypsinu/0,02% EDTA zahřátý na 37 °C a počkejte, dokud se buňky neoddelí, což obvykle trvá asi 5 minut. Neutralizujte trypsin přidáním čerstvého média, poté přeneste směs buněk do zkumavky a odstředte. Po odstředění odeberte supernatant, resuspendujte buněčnou peletu v čerstvém kultivačním médiu a suspenzi přeneste do nových baněk. Přidejte G418 do kultivačního média, abyste dosáhli konečné koncentrace 0,5 mg/ml**Split ratio** Doporučuje se poměr 1:3 až 1:4**Seeding density** 2 až 4 x 10⁴ buněk/cm²**Fluid renewal** 2 až 3krát týdně

Buňky NRK-Pom121-EGFP3 | 500669

Freeze medium

Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředíte při $300 \times g$ po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělíte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Pro optimální uchycení a životaschopnost po rozmrazení doporučujeme používat **baňky nebo destičky potažené kolagenem**.

Buňky NRK-Pom121-EGFP3 | 500669**Freezing Procedure**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA**Sterility**

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.

Profil STR

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