

## Κύτταρα NRK-Pom121-EGFP3 | 500669

### Γενικές πληροφορίες

#### Description

Η κυτταρική σειρά NRK-Pom121-EGFP3 προέρχεται από κύτταρα φυσιολογικών νεφρών αρουραίου (NRK) και είναι γενετικά τροποποιημένη ώστε να εκφράζει την πρωτεΐνη σύντηξης Pom121-EGFP3. Η Pom121 είναι μια διαμεμβρανική νουκλεοπορίνη που αποτελεί αναπόσπαστο συστατικό του συμπλόκου των πυρηνικών πόρων (NPC), διαδραματίζοντας κρίσιμο ρόλο στη συναρμολόγηση του πυρηνικού φακέλου και στη λειτουργία του NPC. Η ενσωμάτωση της ετικέτας ενισχυμένης πράσινης φθορίζουσας πρωτεΐνης (EGFP3) διευκολύνει την οπτικοποίηση και τη μελέτη της δυναμικής, του εντοπισμού και των αλληλεπιδράσεων της Pom121 εντός ζωντανών κυττάρων μέσω μικροσκοπίας φθορισμού. Αυτό καθιστά την κυτταρική σειρά NRK-Pom121-EGFP3 ένα πολύτιμο εργαλείο για τη διερεύνηση των μηχανισμών πυρηνικής μεταφοράς και της αρχιτεκτονικής του NPC.

Τα κύτταρα NRK, η γονική σειρά του NRK-Pom121-EGFP3, χρησιμοποιούνται συνήθως σε διάφορες ερευνητικές εφαρμογές λόγω των σταθερών χαρακτηριστικών ανάπτυξης και της επιθηλιακής μορφολογίας τους. Η τροποποίηση για την έκφραση του Pom121-EGFP3 παρέχει στους ερευνητές ένα ισχυρό μοντέλο για την εξέταση των μοριακών μηχανισμών που διέπουν την πυρηνοκυτταροπλασματική μεταφορά, τη δομική οργάνωση του NPC και τη ρύθμισή του κατά τη διάρκεια της κυτταρικής διαίρεσης και διαφοροποίησης. Επιπλέον, αυτή η κυτταρική σειρά μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη μελέτη των επιδράσεων διαφόρων γενετικών και φαρμακολογικών διαταραχών στη λειτουργία του NPC, προσφέροντας γνώσεις σχετικά με ασθένειες που σχετίζονται με ελαττώματα της πυρηνικής μεταφοράς, όπως ο καρκίνος και οι νευροεκφυλιστικές διαταραχές.

Συνολικά, η κυτταρική σειρά NRK-Pom121-EGFP3 αντιπροσωπεύει ένα εξελιγμένο εργαλείο στην κυτταρική βιολογία και τη μοριακή έρευνα, παρέχοντας υψηλής ανάλυσης γνώσεις σχετικά με τις δυναμικές διαδικασίες που διέπουν τις πυρηνοκυτταροπλασματικές αλληλεπιδράσεις. Η ικανότητά της να επιτρέπει την παρατήρηση σε πραγματικό χρόνο των συστατικών της NKK σε ζωντανό κυτταρικό περιβάλλον την καθιστά ανεκτίμητη για την προώθηση της κατανόησης των κυτταρικών μηχανισμών μεταφοράς και των επιπτώσεών τους στην υγεία και την ασθένεια.

**Organism** Αρουραίος

**Tissue** Νεφρός

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

### Χαρακτηριστικά

**Breed/Subspecies** OsborneMendel

**Morphology** Κύτταρα που μοιάζουν με ινοβλάστες και έχουν φουσκοειδές σχήμα

**Growth properties** Μονοστρωματική, προσκολλημένη

### Ρυθμιστικά δεδομένα

**Κύτταρα NRK-Pom121-EGFP3 | 500669**

<b>Citation</b>	NRK-Pom121-EGFP3 (αριθμός καταλόγου Cytion 500669)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	10116
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_AV96
<b>Depositor</b>	Εργαστήριο Ellenberg (EMBL)

**Βιομοριακά δεδομένα**

<b>Receptors expressed</b>	Επιδερμικός αυξητικός παράγοντας (EGF), δραστηριότητα διέγερσης του πολλαπλασιασμού (MSA)
<b>Protein expression</b>	Pom121-EGFP3: Τοποθεσία/γονίδιο: 1..589 / Pcmv, 653..4250 / Pom121, 4251..4287 / null, 4318..6546 / 3EGFP, 7780..8574 / KanR/NeoR
<b>Products</b>	Επιδερμικός αυξητικός παράγοντας (EGF), δραστηριότητα διέγερσης πολλαπλασιασμού (MSA), POM121, διαμεμβρανική, νουκλεοπορίνη, CMV Promotor, νεομικίνη, φωσφοτρανσφεράση

**Χειρισμός**

<b>Culture Medium</b>	DMEM, w: 4,5 g/L γλυκόζη, w: 4 mM L-γλουταμίνη, w: 3,7 g/L NaHCO <sub>3</sub> , w: 1,0 mM πυρροβικό νάτριο (αριθμός άρθρου Cytion 820300a)
<b>Supplements</b>	Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS, 0,5 mg/mL G418
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Subculturing</b>	Απορρίψτε το παλιό μέσο και πλύνετε τα κύτταρα με PBS. Προσθέστε ένα φρεσκοπαρασκευασμένο διάλυμα θρυψίνης 0,025%/0,02% EDTA θερμαινόμενο στους 37 βαθμούς Κελσίου και περιμένετε μέχρι να αποκολληθούν τα κύτταρα, το οποίο συνήθως διαρκεί περίπου 5 λεπτά. Εξουδετερώστε τη θρυψίνη προσθέτοντας φρέσκο μέσο, στη συνέχεια μεταφέρετε το μείγμα κυττάρων σε ένα σωληνάριο και φυγοκεντρίστε. Μετά τη φυγοκέντρηση, αφαιρέστε το υπερκείμενο υγρό, ανασυσταθείτε το κυτταρικό σφαιρίδιο σε φρέσκο μέσο καλλιέργειας και μεταφέρετε το εναιώρημα σε νέες φιάλες. Ενσωματώστε το G418 στο μέσο καλλιέργειας ώστε να επιτευχθεί τελική συγκέντρωση 0,5 mg/ml
<b>Split ratio</b>	Συνιστάται αναλογία 1:3 έως 1:4

**Seeding density** 2 έως 4 x 10<sup>4</sup> κύτταρα/cm<sup>2</sup>

**Κύτταρα NRK-Pom121-EGFP3 | 500669****Fluid renewal** 2 έως 3 φορές την εβδομάδα**Freeze medium** Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.**Thawing and Culturing Cells**

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των  $-150^{\circ}\text{C}$  για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο  $37^{\circ}\text{C}$  με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα  $300 \times g$  για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

**Incubation Atmosphere**  $37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.**Flask Coating** Κανένα

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

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

**Shipping Conditions**

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

**Storage Conditions**

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

**Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA****Sterility**

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.

**Προφίλ STR**

**Rat\_D1Wox31:** 96,1  
**Rat\_D2Wox37:** 156  
**Rat\_D19Wox11:** 220  
**Rat\_D10Wox8:** 266,27  
**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