

Cellule NRK-Pom121-EGFP3 | 500669**Informazioni generali****Description**

La linea cellulare NRK-Pom121-EGFP3 deriva da cellule normali di rene di ratto (NRK) ed è geneticamente ingegnerizzata per esprimere la proteina di fusione Pom121-EGFP3. Pom121 è una nucleoporina transmembrana che è una componente integrale del complesso del poro nucleare (NPC) e svolge un ruolo cruciale nell'assemblaggio dell'involucro nucleare e nella funzione dell'NPC. L'inclusione del tag EGFP3 (enhanced green fluorescent protein) facilita la visualizzazione e lo studio della dinamica, della localizzazione e delle interazioni di Pom121 all'interno di cellule vive attraverso la microscopia a fluorescenza. Ciò rende la linea cellulare NRK-Pom121-EGFP3 uno strumento prezioso per studiare i meccanismi di trasporto nucleare e l'architettura delle NPC.

Le cellule NRK, la linea parentale di NRK-Pom121-EGFP3, sono comunemente utilizzate in varie applicazioni di ricerca grazie alle loro caratteristiche di crescita stabile e alla morfologia epiteliale. La modifica per esprimere Pom121-EGFP3 fornisce ai ricercatori un modello robusto per esaminare i meccanismi molecolari alla base del trasporto nucleocitoplasmatico, l'organizzazione strutturale della NPC e la sua regolazione durante la divisione e il differenziamento cellulare. Inoltre, questa linea cellulare può essere utilizzata per studiare gli effetti di varie perturbazioni genetiche e farmacologiche sulla funzione della NPC, offrendo spunti di riflessione sulle malattie associate a difetti del trasporto nucleare, come il cancro e i disturbi neurodegenerativi.

Nel complesso, la linea cellulare NRK-Pom121-EGFP3 rappresenta uno strumento sofisticato per la biologia cellulare e la ricerca molecolare, in quanto fornisce approfondimenti ad alta risoluzione sui processi dinamici che regolano le interazioni nucleocitoplasmatiche. La sua capacità di consentire l'osservazione in tempo reale dei componenti della NPC in un contesto cellulare vivo la rende preziosa per far progredire la nostra comprensione dei meccanismi di trasporto cellulare e delle loro implicazioni nella salute e nella malattia.

Organism Ratto**Tissue** Rene**Synonyms** NRK Pom121-EGFP3, NRK Pom121-3EGFP, NRK-Pom121-3EGFP**Caratteristiche****Breed/Subspecies** OsborneMendel**Morphology** Cellule simili a fibroblasti con forma fusiforme**Growth properties** Monostrato, aderente**Dati normativi****Citation** NRK-Pom121-EGFP3 (numero di catalogo Cytion 500669)

Cellule NRK-Pom121-EGFP3 | 500669**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10116**CellosaurusAccession** CVCL_AV96**Depositor** Il laboratorio Ellenberg (EMBL)**Dati biomolecolari****Receptors expressed** Fattore di crescita epidermico (EGF), attività stimolante la moltiplicazione (MSA)**Protein expression** Pom121-EGFP3: Posizione/Gene: 1..589 / Pcmv, 653..4250 / Pom121, 4251..4287 / null, 4318..6546 / 3EGFP, 7780..8574 / KanR/NeoR**Products** Fattore di crescita epidermico (EGF), attività stimolante la moltiplicazione (MSA), POM121, Transmembrana, Nucleoporina, Promotore CMV, Neomicina, Fosfotransferasi**Manipolazione****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L di glucosio, w: 4 mM di L-Glutammina, w: 3,7 g/L di NaHCO₃, w: 1,0 mM di piruvato di sodio (articolo Cytion numero 820300a)**Supplements** Integrare il terreno di coltura con 10% FBS, 0,5 mg/mL G418**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Eliminare il vecchio terreno e lavare le cellule con PBS. Aggiungere una soluzione di tripsina 0,025%/0,02% EDTA appena preparata e riscaldata a 37 gradi Celsius e attendere che le cellule si stacchino, il che di solito richiede circa 5 minuti. Neutralizzare la tripsina aggiungendo terreno fresco, quindi trasferire la miscela di cellule in una provetta e centrifugare. Dopo la centrifugazione, rimuovere il surnatante, risospendere il pellet di cellule in terreno di coltura fresco e trasferire la sospensione in nuove fiasche. Incorporare G418 nel terreno di coltura per ottenere una concentrazione finale di 0,5 mg/ml**Split ratio** Si raccomanda un rapporto da 1:3 a 1:4**Seeding density** Da 2 a 4 x 10⁴ cellule/cm²**Fluid renewal** da 2 a 3 volte alla settimana

Cellule NRK-Pom121-EGFP3 | 500669

Freeze medium

Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelo, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosfera umidificata.

Flask Coating

Per un attaccamento e una vitalità ottimali dopo lo scongelamento, si consiglia di utilizzare **fiasche o piastre rivestite di collagene**.

Cellule NRK-Pom121-EGFP3 | 500669

Freezing Procedure

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo di qualità / Profilo genetico / HLA

Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.

Profilo 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