

**Komórki NRK-Pom121-EGFP3 | 500669****Informacje ogólne****Description**

Linia komórkowa NRK-Pom121-EGFP3 pochodzi z normalnych komórek nerki szczura (NRK) i jest genetycznie zmodyfikowana w celu ekspresji białka fuzyjnego Pom121-EGFP3. Pom121 jest przezbłonową nukleoporyną, która jest integralnym składnikiem kompleksu porów jądrowych (NPC), odgrywając kluczową rolę w montażu otoczki jądrowej i funkcji NPC. Włączenie znacznika wzmocnionego zielonego białka fluorescencyjnego (EGFP3) ułatwia wizualizację i badanie dynamiki, lokalizacji i interakcji Pom121 w żywych komórkach za pomocą mikroskopii fluorescencyjnej. Sprawia to, że linia komórkowa NRK-Pom121-EGFP3 jest cennym narzędziem do badania mechanizmów transportu jądrowego i architektury NPC.

Komórki NRK, linia rodzicielska NRK-Pom121-EGFP3, są powszechnie wykorzystywane w różnych zastosowaniach badawczych ze względu na ich stabilną charakterystykę wzrostu i morfologię nabłonka. Modyfikacja w celu ekspresji Pom121-EGFP3 zapewnia naukowcom solidny model do badania mechanizmów molekularnych leżących u podstaw transportu nukleocytoplazmatycznego, organizacji strukturalnej NPC i jej regulacji podczas podziału i różnicowania komórek. Dodatkowo, ta linia komórkowa może być wykorzystywana do badania wpływu różnych zaburzeń genetycznych i farmakologicznych na funkcję NPC, oferując wgląd w choroby związane z defektami transportu jądrowego, takie jak rak i zaburzenia neurodegeneracyjne.

Ogólnie rzecz biorąc, linia komórkowa NRK-Pom121-EGFP3 stanowi zaawansowane narzędzie w biologii komórki i badaniach molekularnych, zapewniając wgląd w dynamiczne procesy rządzące interakcjami nukleocytoplazmatycznymi. Jej zdolność do obserwacji w czasie rzeczywistym składników NPC w kontekście żywych komórek sprawia, że jest ona nieoceniona dla lepszego zrozumienia mechanizmów transportu komórkowego i ich wpływu na zdrowie i chorobę.

**Organism**      Szczur**Tissue**      Nerka**Synonyms**      NRK Pom121-EGFP3, NRK Pom121-3EGFP, NRK-Pom121-3EGFP**Charakterystyka****Breed/Subspecies**      OsborneMendel**Morphology**      Komórki podobne do fibroblastów o wrzecionowatym kształcie**Growth properties**      Monowarstwa, przylegająca**Dane regulacyjne****Citation**      NRK-Pom121-EGFP3 (numer katalogowy Cytion 500669)

**Komórki NRK-Pom121-EGFP3 | 500669**

<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	10116
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_AV96
<b>Depositor</b>	Laboratorium Ellenberg (EMBL)

**Dane biomolekularne**

<b>Receptors expressed</b>	Epidermalny czynnik wzrostu (EGF), aktywność stymulująca namnażanie (MSA)
<b>Protein expression</b>	Pom121-EGFP3: Lokalizacja/gen: 1..589 / Pcmv, 653..4250 / Pom121, 4251..4287 / null, 4318..6546 / 3EGFP, 7780..8574 / KanR/NeoR
<b>Products</b>	Naskórkowy czynnik wzrostu (EGF), aktywność stymulująca namnażanie (MSA), POM121, transbłonowy, nukleoporyna, promotor CMV, neomycyna, fosfotransferaza

**Obsługa**

<b>Culture Medium</b>	DMEM, w: 4,5 g/l glukozy, w: 4 mM L-glutaminy, w: 3,7 g/l NaHCO <sub>3</sub> , w: 1,0 mM pirogronianu sodu (numer artykułu Cytion 820300a)
<b>Supplements</b>	Uzupełnić podłoże 10% FBS, 0,5 mg/ml G418
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Subculturing</b>	Wyrzucić starą pożywkę i przepłukać komórki PBS. Dodaj świeżo przygotowany 0,025% roztwór trypsyny/0,02% EDTA podgrzany do 37 stopni Celsjusza i poczekaj, aż komórki się odłączą, co zwykle zajmuje około 5 minut. Zneutralizować trypsynę przez dodanie świeżej pożywki, a następnie przenieść mieszaninę komórek do próbówki i odwirować. Po odwirowaniu usunąć supernatant, ponownie zawiesić osad komórkowy w świeżej pożywce i przenieść zawiesinę do nowych kolb. Dodać G418 do podłoża hodowlanego, aby osiągnąć końcowe stężenie 0,5 mg/ml
<b>Split ratio</b>	Zalecany jest stosunek 1:3 do 1:4
<b>Seeding density</b>	2 do 4 x 10 <sup>4</sup> komórek/cm <sup>2</sup>
<b>Fluid renewal</b>	2 do 3 razy w tygodniu

## Komórki NRK-Pom121-EGFP3 | 500669

### Freeze medium

Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

### Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej  $-150^{\circ}\text{C}$ , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze  $37^{\circ}\text{C}$  z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml próbówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością  $300 \times g$  przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , nawilżona atmosfera.

### Flask Coating

Brak

## Komórki NRK-Pom121-EGFP3 | 500669

### Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

### Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

### Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

## Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

### Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczone przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

### Profil 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