

**Células NRK-Pom121-EGFP3 | 500669****Informações gerais****Description**

A linha celular NRK-Pom121-EGFP3 é derivada de células normais de rim de rato (NRK) e é geneticamente modificada para expressar a proteína de fusão Pom121-EGFP3. A Pom121 é uma nucleoporina transmembrana que é um componente integral do complexo do poro nuclear (NPC), desempenhando um papel crucial na montagem do envelope nuclear e na função do NPC. A inclusão da etiqueta de proteína fluorescente verde melhorada (EGFP3) facilita a visualização e o estudo da dinâmica, localização e interações da Pom121 em células vivas através de microscopia de fluorescência. Isto faz com que a linha celular NRK-Pom121-EGFP3 seja uma ferramenta valiosa para investigar os mecanismos de transporte nuclear e a arquitetura da NPC.

As células NRK, a linha parental da NRK-Pom121-EGFP3, são normalmente utilizadas em várias aplicações de investigação devido às suas características de crescimento estável e morfologia epitelial. A modificação para expressar Pom121-EGFP3 fornece aos investigadores um modelo robusto para examinar os mecanismos moleculares subjacentes ao transporte nucleocitoplasmático, a organização estrutural do NPC e a sua regulação durante a divisão e diferenciação celular. Além disso, esta linha celular pode ser usada para estudar os efeitos de várias perturbações genéticas e farmacológicas na função do NPC, oferecendo informações sobre doenças associadas a defeitos no transporte nuclear, como o cancro e doenças neurodegenerativas.

Em termos gerais, a linha celular NRK-Pom121-EGFP3 representa uma ferramenta sofisticada na biologia celular e na investigação molecular, fornecendo informações de alta resolução sobre os processos dinâmicos que regem as interações nucleocitoplasmáticas. A sua capacidade de permitir a observação em tempo real dos componentes do NPC num contexto celular vivo torna-a inestimável para o avanço da nossa compreensão dos mecanismos de transporte celular e das suas implicações na saúde e na doença.

**Organism** Rato**Tissue** Rim**Synonyms** NRK Pom121-EGFP3, NRK Pom121-3EGFP, NRK-Pom121-3EGFP**Caraterísticas****Breed/Subspecies** OsborneMendel**Morphology** Células semelhantes a fibroblastos com forma fusiforme**Growth properties** Monocamada, aderente**Dados regulamentares****Citation** NRK-Pom121-EGFP3 (número de catálogo 500669 da Cytion)

## Células NRK-Pom121-EGFP3 | 500669

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

### Dados biomoleculares

<b>Receptors expressed</b>	Fator de crescimento epidérmico (EGF), atividade estimuladora da multiplicação (MSA)
<b>Protein expression</b>	Pom121-EGFP3: Localização/Gene: 1..589 / Pcmv, 653..4250 / Pom121, 4251..4287 / null, 4318..6546 / 3EGFP, 7780..8574 / KanR/NeoR
<b>Products</b>	Fator de crescimento epidérmico (EGF), atividade estimuladora da multiplicação (MSA), POM121, Transmembrana, Nucleoporina, Promotor CMV, Neomicina, Fosfotransferase

### Manuseamento

<b>Culture Medium</b>	DMEM, com: 4,5 g/L de glucose, com: 4 mM de L-Glutamina, com: 3,7 g/L de NaHCO <sub>3</sub> , com: 1,0 mM de piruvato de sódio (número de artigo Cytion 820300a)
-----------------------	--

<b>Supplements</b>	Suplementar o meio com 10% de FBS, 0,5 mg/mL de G418
--------------------	--

<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
-----------------------------	----------

<b>Subculturing</b>	Deitar fora o meio antigo e lavar as células com PBS. Adicionar uma solução recém-preparada de tripsina a 0,025%/0,02% de EDTA aquecida a 37 graus Celsius e aguardar até que as células se desprendam, o que normalmente demora cerca de 5 minutos. Neutralizar a tripsina adicionando meio fresco e, em seguida, transferir a mistura de células para um tubo e centrifugar. Após a centrifugação, remover o sobrenadante, ressuspender o pellet de células em meio de cultura fresco e transferir a suspensão para novos frascos. Incorporar G418 no meio de cultura para obter uma concentração final de 0,5 mg/ml
---------------------	--

<b>Seeding density</b>	2 a 4 x 10 <sup>4</sup> células/cm <sup>2</sup>
------------------------	---

<b>Fluid renewal</b>	2 a 3 vezes por semana
----------------------	------------------------

## Células NRK-Pom121-EGFP3 | 500669

### Freeze medium

Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

### Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a  $-150^{\circ}\text{C}$  para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a  $37^{\circ}\text{C}$  com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfetando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfetado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a  $300 \times g$  durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

### Incubation Atmosphere

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

### Flask Coating

Para uma fixação e viabilidade óptimas após a descongelação, recomendamos a utilização de **frascos ou placas revestidos com colagénio**.

## Células NRK-Pom121-EGFP3 | 500669

### Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

### Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

### Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

## Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

### Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspeções visuais diárias.