

Celule NRK-Pom121-EGFP3 | 500669**Informații generale****Description**

Linia celulară NRK-Pom121-EGFP3 este derivată din celule normale de rinichi de șobolan (NRK) și este modificată genetic pentru a exprima proteina de fuziune Pom121-EGFP3. Pom121 este o nucleoporină transmembranară care este o componentă integrantă a complexului porilor nucleari (NPC), jucând un rol crucial în asamblarea învelișului nuclear și în funcția NPC. Includerea etichetei EGFP3 (enhanced green fluorescent protein) facilitează vizualizarea și studiul dinamicii, localizării și interacțiunilor Pom121 în celulele vii prin microscopie cu fluorescență. Aceasta face din linia celulară NRK-Pom121-EGFP3 un instrument valoros pentru investigarea mecanismelor de transport nuclear și a arhitecturii NPC.

Celulele NRK, linia parentală a NRK-Pom121-EGFP3, sunt utilizate în mod obișnuit în diverse aplicații de cercetare datorită caracteristicilor lor stabile de creștere și morfologiei epiteliale. Modificarea pentru a exprima Pom121-EGFP3 oferă cercetătorilor un model robust pentru a examina mecanismele moleculare care stau la baza transportului nucleocitoplasmatic, organizarea structurală a NPC și reglarea acestuia în timpul diviziunii și diferențierii celulare. În plus, această linie celulară poate fi utilizată pentru a studia efectele diferitelor perturbări genetice și farmacologice asupra funcției NPC, oferind perspective asupra bolilor asociate cu defecte de transport nuclear, cum ar fi cancerul și tulburările neurodegenerative.

În general, linia celulară NRK-Pom121-EGFP3 reprezintă un instrument sofisticat în biologia celulară și cercetarea moleculară, oferind o perspectivă de înaltă rezoluție asupra proceselor dinamice care guvernează interacțiunile nucleocitoplasmatic. Capacitatea sa de a permite observarea în timp real a componentelor NPC într-un context celular viu o face neprețuită pentru a avansa în înțelegerea noastră a mecanismelor de transport celular și a implicațiilor acestora în sănătate și boală.

Organism Șobolan**Tissue** Rinichi**Synonyms** NRK Pom121-EGFP3, NRK Pom121-3EGFP, NRK-Pom121-3EGFP**Caracteristici****Breed/Subspecies** OsborneMendel**Morphology** Celule asemănătoare fibroblastelor cu formă fusiformă**Growth properties** Monostrat, aderent**Date de reglementare****Citation** NRK-Pom121-EGFP3 (număr de catalog Cytion 500669)

Celule NRK-Pom121-EGFP3 | 500669

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10116
CellosaurusAccession	CVCL_AV96
Depositor	Laboratorul Ellenberg (EMBL)

Date biomoleculare

Receptors expressed	Factor de creștere epidermică (EGF), activitate de stimulare a multiplicării (MSA)
Protein expression	Pom121-EGFP3: Localizare/Gene: 1..589 / Pcmv, 653..4250 / Pom121, 4251..4287 / null, 4318..6546 / 3EGFP, 7780..8574 / KanR/NeoR
Products	Factor de creștere epidermică (EGF), activitate de stimulare a multiplicării (MSA), POM121, Transmembrană, Nucleoporină, Promotor CMV, Neomicină, Fosfotransferază

Manipulare

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glucoză, w: 4 mM L-glutamină, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM piruvat de sodiu (număr articol Cytion 820300a)
-----------------------	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Supplements	Suplimentați mediul cu 10% FBS, 0,5 mg/mL G418
--------------------	------------------------------------------------

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

Subculturing	Aruncați mediul vechi și spălați celulele cu PBS. Se adaugă o soluție proaspăt preparată de tripsină 0,025%/0,02% EDTA încălzită la 37 de grade Celsius și se așteaptă până când celulele se desprind, ceea ce durează de obicei aproximativ 5 minute. Neutralizați tripsina prin adăugarea de mediu proaspăt, apoi transferați amestecul de celule într-un tub și centrifugați. După centrifugare, îndepărtați supernatantul, resuspendați peletul celular în mediu de cultură proaspăt și transferați suspensia în flacoane noi. Încorporați G418 în mediul de cultură pentru a obține o concentrație finală de 0,5 mg/ml
---------------------	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Split ratio	Se recomandă un raport de 1:3 până la 1:4
--------------------	-------------------------------------------

Seeding density	2 până la 4×10^4 cel ^{ule} /cm ²
------------------------	---------------------------------------------------------------

Fluid renewal	de 2 până la 3 ori pe săptămână
----------------------	---------------------------------

Celule NRK-Pom121-EGFP3 | 500669**Freeze medium**

Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezghețare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanți optimizați și stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea și a reduce stresul indus de criogenie.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual.
7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă.
8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%_{CO2}, atmosferă umidificată.

Flask Coating

Niciuna

Freezing Procedure

Linii celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Celule NRK-Pom121-EGFP3 | 500669

Shipping Conditions

Linile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Storage Conditions

Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

Controlul calității / Profil genetic / HLA

Sterility

Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență.

Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.

Profilul 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