

Celice NRK-Pom121-EGFP3 | 500669**Splošne informacije****Description**

Celična linija NRK-Pom121-EGFP3 izhaja iz normalnih ledvičnih celic podgane (NRK) in je gensko zasnovana tako, da izraža fuzijski protein Pom121-EGFP3. Pom121 je transmembranski nukleoporin, ki je sestavni del kompleksa jedrskih por (NPC) in ima ključno vlogo pri sestavljanju jedrske ovojnice in delovanju NPC. Vključitev oznake EGFP3 (enhanced green fluorescent protein) olajša vizualizacijo in preučevanje dinamike, lokalizacije in interakcij Pom121 v živih celicah s pomočjo fluorescenčne mikroskopije. Zato je celična linija NRK-Pom121-EGFP3 dragoceno orodje za raziskovanje mehanizmov jedrskega transporta in zgradbe NPC.

Celice NRK, starševska linija NRK-Pom121-EGFP3, se zaradi svojih stabilnih značilnosti rasti in epitelijske morfologije pogosto uporabljajo v različnih raziskavah. Modifikacija za izražanje Pom121-EGFP3 raziskovalcem zagotavlja zanesljiv model za preučevanje molekularnih mehanizmov, na katerih temelji nukleocitoplazemski transport, strukturne organizacije NPC in njene regulacije med delitvijo in diferenciacijo celic. Poleg tega je mogoče to celično linijo uporabiti za preučevanje učinkov različnih genetskih in farmakoloških motenj na delovanje NPC, kar omogoča vpogled v bolezni, povezane z okvarami jedrskega transporta, kot so rak in nevrodegenerativne motnje.

Na splošno celična linija NRK-Pom121-EGFP3 predstavlja prefinjeno orodje v celični biologiji in molekularnih raziskavah, ki omogoča visoko ločljiv vpogled v dinamične procese, ki urejajo nukleocitoplazemske interakcije. Njena sposobnost, da omogoča opazovanje komponent NPC v realnem času v živem celičnem okolju, jo dela neprecenljivo za izboljšanje našega razumevanja mehanizmov celičnega transporta in njihovih posledic za zdravje in bolezen.

Organism Podgana**Tissue** Ledvice**Synonyms** NRK Pom121-EGFP3, NRK Pom121-3EGFP, NRK-Pom121-3EGFP**Značilnosti****Breed/Subspecies** OsborneMendel**Morphology** Fibroblastom podobne celice s fusiformno obliko**Growth properties** Enoslojni, adherentni**Regulativni podatki****Citation** NRK-Pom121-EGFP3 (kataloška številka Cytion 500669)**Biosafety level** 1

Celice NRK-Pom121-EGFP3 | 500669**NCBI_TaxID** 10116**CellosaurusAccession** CVCL_AV96**Depositor** Laboratorij Ellenberg (EMBL)**Biomolekularni podatki****Receptors expressed** Epidermalni rastni dejavnik (EGF), aktivnost, ki spodbuja razmnoževanje (MSA)**Protein expression** Pom121-EGFP3: Lokacija/gen: 1..589 / Pcmv, 653..4250 / Pom121, 4251..4287 / null, 4318..6546 / 3EGFP, 7780..8574 / KanR/NeoR**Products** Epidermalni rastni dejavnik (EGF), aktivnost, ki spodbuja razmnoževanje (MSA), POM121, transmembranski, nukleoporin, promotor CMV, neomicin, fosfotransferaza**Ravnanje s spletno stranjo****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glukoze, w: 4 mM L-glutamina, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM natrijevega piruvata (številka izdelka Cytion 820300a)**Supplements** Gojišču dodajte 10 % FBS, 0,5 mg/ml G418**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Zavržite staro gojišče in celice sperite s PBS. Dodajte sveže pripravljeno 0,025 % raztopino tripsina/0,02 % EDTA, segreto na 37 stopinj Celzija, in počakajte, da se celice ločijo, kar običajno traja približno 5 minut. Tripsin nevtralizirajte z dodajanjem svežega gojišča, nato celično mešanico prenesite v epruveto in centrifugirajte. Po centrifugiranju odstranite supernatant, ponovno suspendirajte celično peleton v svežem gojišču in suspenzijo prenesite v nove bučke. G418 dodajte v gojišče, da dosežete končno koncentracijo 0,5 mg/ml**Seeding density** 2 do 4 x 10⁴ celic/cm²**Fluid renewal** 2 do 3-krat na teden**Freeze medium** Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročene s kriom.

Celice NRK-Pom121-EGFP3 | 500669

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu krioviala takoj shranite pri temperaturi pod $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $300 \times g$ 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Flask Coating

Za optimalno pritrnitev in sposobnost preživetja po odmrznitvi priporočamo uporabo s **kolagenom prevlečenih bučk ali plošč**.

Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Celice NRK-Pom121-EGFP3 | 500669

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78°C . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vialo postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196°C . Shranjevanje pri -80°C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključuje z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.