

## Клітини NRK-Pom121-EGFP3 | 500669

## Загальна інформація

## Description

Клітинна лінія NRK-Pom121-EGFP3 отримана з клітин нормальної нирки щура (NRK) і генно-інженерно сконструйована для експресії злитого білка Pom121-EGFP3. Pom121 - це трансмембранний нуклеопорін, який є невід'ємним компонентом комплексу ядерних пор (NPC), що відіграє вирішальну роль у формуванні ядерної оболонки та функціонуванні NPC. Включення мітки розширеного зеленого флуоресцентного білка (EGFP3) полегшує візуалізацію та вивчення динаміки, локалізації та взаємодії Pom121 в живих клітинах за допомогою флуоресцентної мікроскопії. Це робить клітинну лінію NRK-Pom121-EGFP3 цінним інструментом для дослідження механізмів ядерного транспорту та архітектури NPC.

Клітини NRK, батьківська лінія NRK-Pom121-EGFP3, широко використовуються в різних дослідницьких програмах завдяки своїм стабільним характеристикам росту та епітеліальній морфології. Модифікація для експресії Pom121-EGFP3 надає дослідникам надійну модель для вивчення молекулярних механізмів, що лежать в основі нуклеоцитоплазматичного транспорту, структурної організації NPC та її регуляції під час поділу та диференціації клітин. Крім того, ця клітинна лінія може бути використана для вивчення впливу різних генетичних і фармакологічних збурень на функцію NPC, пропонуючи розуміння захворювань, пов'язаних з дефектами ядерного транспорту, таких як рак і нейродегенеративні розлади.

Загалом, клітинні лінії NRK-Pom121-EGFP3 є складним інструментом у клітинній біології та молекулярних дослідженнях, що дозволяє з високою роздільною здатністю вивчати динамічні процеси, які керують нуклеоцитоплазматичними взаємодіями. Здатність спостерігати за компонентами NPC в реальному часі в живому клітинному контексті робить його безцінним для поглиблення нашого розуміння механізмів клітинного транспорту та їхнього впливу на здоров'я і хворобу.

**Organism** Щур

**Tissue** Нирка

**Synonyms** NRK Pom121-EGFP3, NRK Pom121-3EGFP, NRK-Pom121-3EGFP

## Характеристики

**Breed/Subspecies** Осборн-Мендель

**Morphology** Фібробластоподібні клітини веретеноподібної форми

**Growth properties** Одношаровий, адгезійний

## Нормативні дані

**Citation** NRK-Pom121-EGFP3 (номер за каталогом Cytion 500669)

## Клітини NRK-Pom121-EGFP3 | 500669

**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 10116**CellosaurusAccession** CVCL\_AV96**Depositor** Лабораторія Елленберга (EMBL)**Біомолекулярні дані****Receptors expressed** Епідермальний фактор росту (EGF), активність, що стимулює розмноження (MSA)**Protein expression** Pom121-EGFP3: Розташування/ген: 1..589 / Pcmv, 653.4250 / Pom121, 4251.4287 / null, 4318.6546 / 3EGFP, 7780.8574 / KanR/NeoR**Products** Епідермальний фактор росту (EGF), активність, що стимулює розмноження (MSA), POM121, трансмембрана, нуклеопорин, промотор ЦМВ, неоміцин, фосфотрансфераза**Обробка****Culture Medium** ДМЕМ, w: 4,5 г/л Глюкоза, w: 4 мМ L-глутамін, w: 3,7 г/л NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 мМ піруват натрію (цит. номер 820300a)**Supplements** Додайте до середовища 10% FBS, 0,5 мг/мл G418**Dissociation Reagent** Аккутаза**Subculturing** Викиньте старе середовище і промийте клітини PBS. Додайте свіжоприготований 0,025% розчин трипсину/0,02% розчин EDTA, нагрітий до 37 градусів Цельсія, і зачекайте, поки клітини відокремляться, що зазвичай займає близько 5 хвилин. Нейтралізуйте трипсин, додавши свіже середовище, потім перенесіть клітинну суміш у пробірку і центрифугуйте. Після центрифугування видаліть надосадову рідину, ресуспендуйте осад клітин у свіжому живильному середовищі та перенесіть суспензію в нові колби. Додайте G418 в культуральне середовище для досягнення кінцевої концентрації 0,5 мг/мл**Split ratio** Рекомендується співвідношення від 1:3 до 1:4**Seeding density** Від 2 до 4 x 10<sup>4</sup> клітин/см<sup>2</sup>**Fluid renewal** 2-3 рази на тиждень

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

Як середовище криоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або СМ-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення криоіндукованого стресу.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте криовіал при температурі нижче  $-150^{\circ}\text{C}$ , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануливши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі  $37^{\circ}\text{C}$ , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи криовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при  $300 \times g$  протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтесь встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

**Incubation Atmosphere**

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , волога атмосфера.

**Flask Coating**

Hi

**Клітини NRK-Pom121-EGFP3 | 500669****Freezing Procedure**

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

**Shipping Conditions**

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

**Storage Conditions**

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

**Контроль якості / Генетичний профіль / HLA****Sterility**

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.

**Профіль 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  
**STR:** x, Y