

## NRK-EGFP2-Nup50-celler | 500726

## Generel information

## Description

NRK-EGFP2-Nup50-cellelinjen er en klonal stabil cellelinje, der stammer fra normale rotnyreceller (NRK). Denne cellelinje blev genereret gennem transfektion af et cirkulært plasmid, der indeholder genet, der koder for fusionsproteinet Enhanced Green Fluorescent Protein (EGFP) og Nucleoporin 50 (Nup50), efterfulgt af selektion af lægemiddelresistens. Resultatet er, at ca. 50 % af cellerne udtrykker EGFP3-Nup50-fusionsproteinet, hvilket gør det muligt at visualisere og spore Nup50 i det cellulære miljø.

Nup50 er en kritisk komponent i kerneporekomplekset, som er ansvarlig for at regulere transporten af molekyler mellem kernen og cytoplasmaet. EGFP3-tagget giver mulighed for levende cellebilleder og andre fluorescensbaserede teknikker til at studere lokalisering, dynamik og interaktioner af Nup50. På trods af at det er en stabil cellelinje, udviser NRK-EGFP2-Nup50-cellerne en vis variation, hvilket indikerer variabilitet i ekspressionsniveauerne af EGFP3-Nup50-fusionsproteinet blandt cellerne.

Denne cellelinje er særlig værdifuld til forskning med fokus på nukleocytoplasmatisk transport, kerneporekompleksets dynamik og Nup50's funktionelle rolle i forskellige cellulære processer. NRK-EGFP2-Nup50-cellerne er velegnede til en række eksperimentelle tilgange, herunder fluorescensgenvinding efter fotoblegning (FRAP), fluorescenskorrelationspektroskopi (FCS) og andre avancerede mikroskopiteknikker. Disse undersøgelser kan give indsigt i de molekylære mekanismer i nuklear transport og bidrage til forståelsen af sygdomme, der er forbundet med dysfunktion i nuklear transport, såsom visse kræftformer og neurodegenerative lidelser.

**Organism** Rotte

**Tissue** Nyre

**Synonyms** NRK EGFP2-Nup50

## Karakteristika

**Breed/Subspecies** OsborneMendel

**Morphology** Fibroblastlignende celler med fusiform form

**Growth properties** Monolag, klæbende

## Regulatoriske data

**Citation** NRK-EGFP2-Nup50 (Cytion katalognummer 500726)

**Biosafety level** 1

## NRK-EGFP2-Nup50-celler | 500726

**NCBI\_TaxID** 10116**CellosaurusAccession** CVCL\_AV93**Depositor** Ellenberg-laboratoriet (EMBL)**Biomolekylære data****Receptors expressed** Epidermal vækstfaktor (EGF), multiplikationsstimulerende aktivitet (MSA)**Protein expression** EGFP3-Nup50**Products** NUP50 (nukleopodin 50)**Håndtering****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glukose, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)**Supplements** Suppler mediet med 10% FBS, 0,5 mg/mL G418**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Kassér det gamle medium, og vask cellerne med PBS. Tilsæt en frisklavet 0,025 % trypsin/0,02 % EDTA-opløsning, der er opvarmet til 37 grader Celsius, og vent, indtil cellerne løsner sig, hvilket normalt tager ca. 5 minutter. Neutraliser tryptinen ved at tilsætte frisk medium, overfør derefter celleblandingen til et rør og centrifuger. Efter centrifugering fjernes supernatanten, cellepelleten resuspenderes i frisk dyrkningsmedium, og suspensionen overføres til nye kolber. Tilsæt G418 til dyrkningsmediet for at opnå en endelig koncentration på 0,5 mg/ml**Split ratio** Det anbefales at bruge et forhold på 1:3 til 1:4**Seeding density** 2 til 4 x 10<sup>4</sup> celler/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal** 2 til 3 gange om ugen

## NRK-EGFP2-Nup50-celler | 500726

**Freeze medium**

Som kryopræserveringsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobybeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryoinduceret stress.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved  $300 \times g$  i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

**Incubation Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , befugtet atmosfære.

**Flask Coating**

Ingen

**Freezing Procedure**

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca.  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

## NRK-EGFP2-Nup50-celler | 500726

### Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

### Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

## Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

### Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.