

## Κύτταρα NRK-EGFP2-Nup50 | 500726

### Γενικές πληροφορίες

#### Description

Η κυτταρική σειρά NRK-EGFP2-Nup50 είναι μια κλωνική σταθερή κυτταρική σειρά που προέρχεται από κύτταρα φυσιολογικών νεφρών αρουραίου (NRK). Αυτή η κυτταρική σειρά δημιουργήθηκε μέσω της διαμόλυνσης ενός κυκλικού πλασμιδίου που περιέχει το γονίδιο που κωδικοποιεί την πρωτεΐνη σύντηξης της ενισχυμένης πράσινης φθορίζουσας πρωτεΐνης (EGFP) και της νουκλεοπορίνης 50 (Nup50), ακολουθούμενη από επιλογή ανθεκτικότητας στα φάρμακα. Ως αποτέλεσμα, περίπου το 50% των κυττάρων εκφράζουν την πρωτεΐνη σύντηξης EGFP3-Nup50, η οποία επιτρέπει την οπτικοποίηση και την παρακολούθηση της Nup50 εντός του κυτταρικού περιβάλλοντος.

Η Nup50 είναι ένα κρίσιμο συστατικό του συμπλόκου του πυρηνικού πόρου, το οποίο είναι υπεύθυνο για τη ρύθμιση της μεταφοράς μορίων μεταξύ του πυρήνα και του κυτταροπλάσματος. Η ετικέτα EGFP3 επιτρέπει την απεικόνιση σε ζωντανό κύτταρο και άλλες τεχνικές που βασίζονται στον φθορισμό για τη μελέτη του εντοπισμού, της δυναμικής και των αλληλεπιδράσεων του Nup50. Παρά το γεγονός ότι πρόκειται για μια σταθερή κυτταρική σειρά, τα κύτταρα NRK-EGFP2-Nup50 παρουσιάζουν κάποια ποικιλομορφία, υποδεικνύοντας μεταβλητότητα στα επίπεδα έκφρασης της πρωτεΐνης σύντηξης EGFP3-Nup50 μεταξύ των κυττάρων.

Αυτή η κυτταρική σειρά είναι ιδιαίτερα πολύτιμη για την έρευνα που επικεντρώνεται στην πυρηνοκυτταροπλασματική μεταφορά, τη δυναμική του συμπλέγματος των πυρηνικών πόρων και τον λειτουργικό ρόλο της Nup50 σε διάφορες κυτταρικές διεργασίες. Τα κύτταρα NRK-EGFP2-Nup50 είναι κατάλληλα για μια σειρά πειραματικών προσεγγίσεων, συμπεριλαμβανομένης της ανάκτησης φθορισμού μετά από φωτοβλάστηση (FRAP), της φασματοσκοπίας συσχέτισης φθορισμού (FCS) και άλλων προηγμένων τεχνικών μικροσκοπίας. Οι μελέτες αυτές μπορούν να παράσχουν πληροφορίες για τους μοριακούς μηχανισμούς της πυρηνικής μεταφοράς και να συμβάλουν στην κατανόηση ασθενειών που σχετίζονται με δυσλειτουργία της πυρηνικής μεταφοράς, όπως ορισμένοι καρκίνοι και νευροεκφυλιστικές διαταραχές.

**Organism** Αρουραίος

**Tissue** Νεφρός

**Synonyms** NRK EGFP2-Nup50

### Χαρακτηριστικά

**Breed/Subspecies** OsborneMendel

**Morphology** Κύτταρα που μοιάζουν με ινοβλάστες και έχουν φουσκοειδές σχήμα

**Growth properties** Μονοστρωματική, προσκολλημένη

### Ρυθμιστικά δεδομένα

## Κύτταρα NRK-EGFP2-Nup50 | 500726

<b>Citation</b>	NRK-EGFP2-Nup50 (αριθμός καταλόγου Cytion 500726)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	10116
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_AV93
<b>Depositor</b>	Εργαστήριο Ellenberg (EMBL)

## Βιομοριακά δεδομένα

<b>Receptors expressed</b>	Επιδερμικός αυξητικός παράγοντας (EGF), δραστηριότητα διέγερσης του πολλαπλασιασμού (MSA)
<b>Protein expression</b>	EGFP3-Nup50
<b>Products</b>	NUP50 (Νουκλεοπορίνη 50)

## Χειρισμός

<b>Culture Medium</b>	DMEM, w: 4,5 g/L γλυκόζη, w: 4 mM L-γλουταμίνη, w: 3,7 g/L NaHCO <sub>3</sub> , w: 1,0 mM πυρροβικό νάτριο (αριθμός άρθρου Cytion 820300a)
<b>Supplements</b>	Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS, 0,5 mg/mL G418
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Subculturing</b>	Απορρίψτε το παλιό μέσο και πλύνετε τα κύτταρα με PBS. Προσθέστε ένα φρεσκοπαρασκευασμένο διάλυμα θρυψίνης 0,025%/0,02% EDTA θερμαινόμενο στους 37 βαθμούς Κελσίου και περιμένετε μέχρι να αποκολληθούν τα κύτταρα, το οποίο συνήθως διαρκεί περίπου 5 λεπτά. Εξουδετερώστε τη θρυψίνη προσθέτοντας φρέσκο μέσο, στη συνέχεια μεταφέρετε το μείγμα κυττάρων σε ένα σωληνάριο και φυγοκεντρίστε. Μετά τη φυγοκέντρηση, αφαιρέστε το υπερκείμενο υγρό, ανασυσταθείτε το κυτταρικό σφαιρίδιο σε φρέσκο μέσο καλλιέργειας και μεταφέρετε το εναιώρημα σε νέες φιάλες. Ενσωματώστε το G418 στο μέσο καλλιέργειας ώστε να επιτευχθεί τελική συγκέντρωση 0,5 mg/ml
<b>Split ratio</b>	Συνιστάται αναλογία 1:3 έως 1:4

<b>Seeding density</b>	2 έως 4 x 10 <sup>4</sup> κύτταρα/cm <sup>2</sup>
------------------------	---

**Κύτταρα NRK-EGFP2-Nup50 | 500726****Fluid renewal** 2 έως 3 φορές την εβδομάδα**Freeze medium** Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.**Thawing and Culturing Cells**

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των  $-150^{\circ}\text{C}$  για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο  $37^{\circ}\text{C}$  με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα  $300 \times g$  για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

**Incubation Atmosphere**  $37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.**Flask Coating** Κανένα

## Κύτταρα NRK-EGFP2-Nup50 | 500726

### Freezing Procedure

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των  $-78^{\circ}\text{C}$  καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

### Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των  $-78^{\circ}\text{C}$  καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

### Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου  $-150$  έως  $-196^{\circ}\text{C}$ . Η αποθήκευση στους  $-80^{\circ}\text{C}$  είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

## Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

### Sterility

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.