

## NRK-EGFP2-Nup50 rakud | 500726

## Üldine teave

## Description

NRK-EGFP2-Nup50 rakuliin on kloonane stabiilne rakuliin, mis on saadud normaalsetest roti neerurakkudest (NRK). See rakuliin genereeriti ringikujulise plasmidi transfektsiooni teel, mis sisaldas tõhustatud rohelise fluorestseeruva valguga (EGFP) ja nukleoporiini 50 (Nup50) fusioonivalgu geeni, millele järgnes ravimresistentsuse selektsioon. Selle tulemusena ekspresseerib ligikaudu 50% rakkudest EGFP3-Nup50 fusioonivalgu, mis võimaldab Nup50 visualiseerimist ja jälgimist rakukeskkonnas.

Nup50 on tuumapoorikompleksi kriitiline komponent, mis vastutab molekulide transpordi reguleerimise eest tuuma ja tsütoplasma vahel. EGFP3-märgis võimaldab Nup50 lokaliseerimise, dünaamika ja interaktsioonide uurimiseks kasutada elusraku pildistamist ja muid fluorestsentsipõhiseid meetodeid. Vaatamata sellele, et NRK-EGFP2-Nup50 rakud on stabiilne rakuliin, esineb neis mõningane varieerumine, mis näitab, et EGFP3-Nup50 fusioonivalgu ekspressiooni tase on rakkude vahel erinev.

See rakuliin on eriti väärtuslik nukleotsütoplasmilise transpordi, tuumapoorikompleksi dünaamika ja Nup50 funktsionaalse rolli uurimiseks erinevates rakuprotsessides. NRK-EGFP2-Nup50 rakud sobivad mitmesuguste eksperimentaalsete lähenemisviiside jaoks, sealhulgas fluorestsentsuse taastumine pärast fotobleachingut (FRAP), fluorestsentskorrelatsioonispektroskoopia (FCS) ja muude täiustatud mikroskoopiatehnikate jaoks. Need uuringud võivad anda ülevaate tuuma transpordi molekulaarsetest mehhanismidest ja aidata kaasa tuuma transpordi häirega seotud haiguste, näiteks teatavate vähkkasvajate ja neurodegeneratiivsete häirete mõistmisele.

**Organism** Rott

**Tissue** Neerud

**Synonyms** NRK EGFP2-Nup50

## Omadused

**Breed/Subspecies** OsborneMendel

**Morphology** Fibroblastitaolised fusiformse kujuga rakud

**Growth properties** Monokihiline, kleepuv

## Regulatiivsed andmed

**Citation** NRK-EGFP2-Nup50 (Cytioni katalooginumbriga 500726)

**Biosafety level** 1

## NRK-EGFP2-Nup50 rakud | 500726

**NCBI\_TaxID** 10116**CellosaurusAccession** CVCL\_AV93**Depositor** Ellenbergi labor (EMBL)**Biomolekulaarsed andmed****Receptors expressed** Epidermise kasvufaktor (EGF), paljunemist stimuleeriv toime (MSA)**Protein expression** EGFP3-Nup50**Products** NUP50 (Nukleoporiin 50)**Töötlemine****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glükoosi, w: 4 mM L-glutamiini, w: 3,7 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM naatriumpüruvaati (Cytioni artikli number 820300a)**Supplements** Täiendada söötme 10% FBS, 0,5 mg/ml G418-ga**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Visake vana söötme ära ja peske rakud PBSiga. Lisage värskelt valmistatud 0,025% trüpsiini/0,02% EDTA lahust, mida on kuumutatud 37 kraadini, ja oodake, kuni rakud eralduvad, mis tavaliselt võtab umbes 5 minutit. Neutraliseerige trüpsiin, lisades värsket keskkonda, seejärel viige rakusegu katseklaasi ja tsentrifuugige. Pärast tsentrifuugimist eemaldage supernatant, resuspenseerige rakupellet värskes söötmes ja viige suspensioon uutesse kolvidesse. Lisage G418 kultuurikeskkonda, et saavutada lõppkontsentratsioon 0,5 mg/ml**Split ratio** Soovitav on suhe 1:3 kuni 1:4**Seeding density** 2 kuni  $4 \times 10^4$  rakku/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal** 2 kuni 3 korda nädalas**Freeze medium** Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

## NRK-EGFP2-Nup50 rakud | 500726

**Thawing and  
Culturing Cells**

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu  $300 \times g$  juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation  
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , niisutatud atmosfäär.

**Flask Coating**

Puudub

**Freezing  
Procedure**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Shipping  
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

## NRK-EGFP2-Nup50 rakud | 500726

### Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

### Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

#### Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.