

## NRK-EGFP2-Nup50 šūnas | 500726

## Vispārīga informācija

## Description

NRK-EGFP2-Nup50 šūnu līnija ir klonāla stabila šūnu līnija, kas iegūta no normālām žurku nieru (NRK) šūnām. Šī šūnu līnija tika izveidota, transfekējot apļveida plazmīdu, kas satur gēnu, kurš kodē pastiprināta zaļā fluorescējošā proteīna (EGFP) un nukleoporīna 50 (Nup50) saplūšanas proteīnu, un pēc tam veicot zāļu rezistences selekciju. Rezultātā aptuveni 50 % šūnu ekspresē EGFP3-Nup50 saplūšanas proteīnu, kas ļauj vizualizēt un izsekot Nup50 šūnu vidē.

Nup50 ir kodola poru kompleksa būtiska sastāvdaļa, kas regulē molekulu transportu starp kodolu un citoplazmu. EGFP3 marķējums ļauj veikt dzīvās šūnas attēlveidošanu un citas uz fluorescenci balstītas metodes, lai pētītu Nup50 lokalizāciju, dinamiku un mijiedarbību. Lai gan NRK-EGFP2-Nup50 šūnu līnija ir stabila, NRK-EGFP2-Nup50 šūnām ir zināmas variācijas, kas norāda uz EGFP3-Nup50 saplūšanas proteīna ekspresijas līmeņu mainību šūnās.

Šī šūnu līnija ir īpaši vērtīga pētījumiem, kas vērsti uz nukleocitoplazmas transportu, kodola poru kompleksa dinamiku un Nup50 funkcionālo lomu dažādos šūnu procesos. NRK-EGFP2-Nup50 šūnas ir piemērotas dažādām eksperimentālām metodēm, tostarp fluorescences atgūšanai pēc fotobloķēšanas (FRAP), fluorescences korelācijas spektroskopijai (FCS) un citām modernām mikroskopijas metodēm. Šie pētījumi var sniegt ieskatu kodola transporta molekulārajos mehānismos un veicināt izpratni par slimībām, kas saistītas ar kodola transporta disfunkciju, piemēram, dažiem vēža veidiem un neirodeģeneratīviem traucējumiem.

**Organism** Žurkas

**Tissue** Nieres

**Synonyms** NRK EGFP2-Nup50

## Raksturojums

**Breed/Subspecies** OsborneMendel

**Morphology** Fibroblastiem līdzīgas šūnas ar fusiformas formu

**Growth properties** Vienslāņa, adhēzija

## Normatīvie dati

**Citation** NRK-EGFP2-Nup50 (Cytion kataloga numurs 500726)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 10116

## NRK-EGFP2-Nup50 šūnas | 500726

**CellosaurusAccession** CVCL\_AV93**Depositor** Ellenberga laboratorija (EMBL)**Biomolekulārie dati****Receptors expressed** Epidermas augšanas faktors (EGF), multiplikāciju stimulējoša aktivitāte (MSA)**Protein expression** EGFP3-Nup50**Products** NUP50 (nukleoporīns 50)**Darbs ar****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glikozes, w: 4 mM L-glutamīna, w: 3,7 g/l NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM nātrija piruvāta (Cytion izstrādājuma numurs 820300a)**Supplements** Papildiniet barotni ar 10% FBS, 0,5 mg/ml G418**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Izmetiet veco barotni un izskalojiet šūnas ar PBS. Pievienojiet svaigi sagatavotu 0,025 % tripsīna/0,02 % EDTA šķīdumu, kas uzsildīts līdz 37 °C temperatūrai, un pagaidiet, līdz šūnas atdalās, kas parasti ilgst apmēram 5 minūtes. Neitralizēt tripsīnu, pievienojot svaigu barotni, pēc tam šūnu maisījumu pārvietot mēģenē un centrifugēt. Pēc centrifugēšanas noņemiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnu granulas svaigā barotnē un pārnesiet suspensiju uz jaunām kolbām. Iekļaut G418 barotnē, lai sasniegtu galīgo koncentrāciju 0,5 mg/ml**Split ratio** Ieteicamais proporcijas ir no 1:3 līdz 1:4**Seeding density** 2 līdz 4 x 10<sup>4</sup> šūnas/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal** 2 līdz 3 reizes nedēļā**Freeze medium** Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanu un samazinātu krioinducēto stresu.

## NRK-EGFP2-Nup50 šūnas | 500726

**Thawing and  
Culturing Cells**

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

**Incubation  
Atmosphere**37°C, 5%  $\text{CO}_2$ , mitrināta atmosfēra.**Flask Coating**

Neviens

**Freezing  
Procedure**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

## NRK-EGFP2-Nup50 šūnas | 500726

### Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

### Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

## Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

### Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.