

## NRK-EGFP2-Nup50-celler | 500726

## Generell informasjon

## Description

NRK-EGFP2-Nup50-cellelinjen er en klonal, stabil cellelinje avledet fra normale rottenyreceller (NRK). Denne cellelinjen ble generert ved transfeksjon av et sirkulært plasmid som inneholder genet som koder for fusjonsproteinet av Enhanced Green Fluorescent Protein (EGFP) og Nucleoporin 50 (Nup50), etterfulgt av seleksjon for medikamentresistens. Resultatet er at omtrent 50 % av cellene uttrykker fusjonsproteinet EGFP3-Nup50, noe som gjør det mulig å visualisere og spore Nup50 i det cellulære miljøet.

Nup50 er en kritisk komponent i kjerneporekomplekset, som er ansvarlig for å regulere transporten av molekyler mellom kjernen og cytoplasmaet. EGFP3-taggen gjør det mulig å studere lokaliseringen, dynamikken og interaksjonene til Nup50 ved hjelp av levende celleavbildning og andre fluorescensbaserte teknikker. Til tross for at det er en stabil cellelinje, viser NRK-EGFP2-Nup50-cellene en viss variasjon, noe som tyder på at uttrykksnivået av EGFP3-Nup50-fusjonsproteinet varierer mellom cellene.

Denne cellelinjen er spesielt verdifull for forskning som fokuserer på nukleocytoplasmatisk transport, kjerneporekompleksets dynamikk og Nup50s funksjonelle rolle i ulike cellulære prosesser. NRK-EGFP2-Nup50-cellene er egnet for en rekke eksperimentelle tilnæringer, inkludert fluorescensgjenoppretting etter fotobleking (FRAP), fluorescenskorrelasjonsspektroskopi (FCS) og andre avanserte mikroskopiteknikker. Disse studiene kan gi innsikt i de molekylære mekanismene for kjernetransport og bidra til forståelsen av sykdommer som er forbundet med dysfunksjon i kjernetransporten, for eksempel visse kreftformer og nevrodegenerative lidelser.

**Organism** Rotte

**Tissue** Nyre

**Synonyms** NRK EGFP2-Nup50

## Kjennetegn

**Breed/Subspecies** OsborneMendel

**Morphology** Fibroblastlignende celler med fusiform form

**Growth properties** Monolag, vedheftende

## 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 vekstfaktor (EGF), multiplikasjonsstimulerende aktivitet (MSA)**Protein expression** EGFP3-Nup50**Products** NUP50 (nukleoporin 50)**Håndtering****Culture Medium** DMEM, m: 4,5 g/L glukose, m: 4 mM L-glutamin, m: 3,7 g/L NaHCO<sub>3</sub>, m: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikkelnummer 820300a)**Supplements** Suppler mediet med 10 % FBS, 0,5 mg/mL G418**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Kast det gamle mediet, og vask cellene med PBS. Tilsett en nytilberedt 0,025 % trypsin/0,02 % EDTA-løsning oppvarmet til 37 grader Celsius, og vent til cellene løsner, noe som vanligvis tar ca. 5 minutter. Nøytraliser trypsinet ved å tilsette nytt medium, og overfør deretter celleblandingen til et rør og sentrifuger. Etter sentrifugering fjerner du supernatanten, resuspenderer cellepelleten i nytt dyrkningsmedium og overfører suspensjonen til nye kolber. Tilsett G418 i dyrkningsmediet for å oppnå en sluttkonsentrasjon på 0,5 mg/ml**Split ratio** Et forhold på 1:3 til 1:4 anbefales**Seeding density** 2 til  $4 \times 10^4$  celler/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal** 2 til 3 ganger per uke**Freeze medium** Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter optining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoundusert stress.

## NRK-EGFP2-Nup50-celler | 500726

### Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkningsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved  $300 \times g$  i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkningsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

### Incubation Atmosphere

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

### Flask Coating

Ingen

### Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca.  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

### Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca.  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

## NRK-EGFP2-Nup50-celler | 500726

### Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

## Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

### Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.