

## NRK-EGFP2-Nup50-celler | 500726

## Allmän information

## Description

Cellinjen NRK-EGFP2-Nup50 är en klonal stabil cellinje som härrör från normala njurceller från råtta (NRK). Denna cellinje genererades genom transfektion av en cirkulär plasmid innehållande genen som kodar för fusionsproteinet av Enhanced Green Fluorescent Protein (EGFP) och Nucleoporin 50 (Nup50), följt av selektion för läkemedelsresistens. Som ett resultat av detta uttrycker cirka 50% av cellerna fusionsproteinet EGFP3-Nup50, vilket möjliggör visualisering och spårning av Nup50 i cellmiljön.

Nup50 är en kritisk komponent i kärnporkomplexet, som ansvarar för att reglera transporten av molekyler mellan kärnan och cytoplasman. EGFP3-taggen möjliggör avbildning av levande celler och andra fluorescensbaserade tekniker för att studera lokalisering, dynamik och interaktioner hos Nup50. Trots att det är en stabil cellinje uppvisar NRK-EGFP2-Nup50-cellerna en viss variation, vilket indikerar variabilitet i uttrycksnivåerna för fusionsproteinet EGFP3-Nup50 mellan cellerna.

Denna cellinje är särskilt värdefull för forskning som fokuserar på nukleocytoplasmisk transport, kärnporkomplexets dynamik och Nup50:s funktionella roll i olika cellprocesser. NRK-EGFP2-Nup50-cellerna är lämpliga för en rad olika experimentella metoder, inklusive fluorescensåterhämtning efter fotoblekning (FRAP), fluorescenskorrelationspektroskopi (FCS) och andra avancerade mikroskopitekniker. Dessa studier kan ge insikter i de molekylära mekanismerna för kärntransport och bidra till förståelsen av sjukdomar som är förknippade med dysfunktion i kärntransporten, såsom vissa cancerformer och neurodegenerativa sjukdomar.

**Organism** Råtta

**Tissue** Njurar

**Synonyms** NRK EGFP2-Nup50

## Egenskaper

**Breed/Subspecies** OsborneMendel

**Morphology** Fibroblastliknande celler med fusiform form

**Growth properties** Monolager, vidhäftande

## Lagstadgade uppgifter

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

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 10116

## NRK-EGFP2-Nup50-celler | 500726

**CellosaurusAccession** CVCL\_AV93**Depositor** Ellenberg-laboratoriet (EMBL)**Biomolekylära data****Receptors expressed** Epidermal tillväxtfaktor (EGF), multiplikationsstimulerande aktivitet (MSA)**Protein expression** EGFP3-Nup50**Products** NUP50 (nukleoporin 50)**Hantering****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glukos, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)**Supplements** Komplettera mediet med 10% FBS, 0,5 mg/ml G418**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Kassera det gamla mediet och tvätta cellerna med PBS. Tillsätt en nyberedd 0,025% trypsin/0,02% EDTA-lösning som värmts upp till 37 grader Celsius och vänta tills cellerna lossnar, vilket vanligtvis tar cirka 5 minuter. Neutralisera trypsinet genom att tillsätta färskt medium, överför sedan cellblandningen till ett rör och centrifugera. Efter centrifugeringen avlägsnas supernatanten, cellpelleten resuspenderas i färskt odlingsmedium och suspensionen överförs till nya kolvar. Tillsätt G418 i odlingsmediet för att uppnå en slutlig koncentration på 0,5 mg/ml**Split ratio** Ett förhållande på 1:3 till 1:4 rekommenderas**Seeding density** 2 till  $4 \times 10^4$  celler/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal** 2 till 3 gånger per vecka**Freeze medium** Som kryokonservationsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

## NRK-EGFP2-Nup50-celler | 500726

### Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfryst vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeshuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid  $300 \times g$  i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkanor; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , befuktad atmosfär.

### Flask Coating

Ingen

### Freezing Procedure

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

### Shipping Conditions

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

## NRK-EGFP2-Nup50-celler | 500726

### Storage Conditions

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

## Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

### Sterility

Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik.

För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.