

Células NRK-EGFP2-Nup50 | 500726

Información general

Description

La línea celular NRK-EGFP2-Nup50 es una línea celular clonal estable derivada de células normales de riñón de rata (NRK). Esta línea celular se generó mediante la transfección de un plásmido circular que contiene el gen que codifica la proteína de fusión de la proteína verde fluorescente mejorada (EGFP) y la nucleoporina 50 (Nup50), seguida de selección de resistencia a fármacos. Como resultado, aproximadamente el 50% de las células expresan la proteína de fusión EGFP3-Nup50, lo que permite la visualización y el seguimiento de Nup50 dentro del entorno celular.

Nup50 es un componente crítico del complejo del poro nuclear, responsable de regular el transporte de moléculas entre el núcleo y el citoplasma. La etiqueta EGFP3 permite obtener imágenes de células vivas y otras técnicas basadas en la fluorescencia para estudiar la localización, la dinámica y las interacciones de Nup50. A pesar de ser una línea celular estable, las células NRK-EGFP2-Nup50 muestran cierta variegación, lo que indica variabilidad en los niveles de expresión de la proteína de fusión EGFP3-Nup50 entre las células.

Esta línea celular es especialmente valiosa para la investigación centrada en el transporte nucleocitoplasmático, la dinámica del complejo de poros nucleares y el papel funcional de Nup50 en diversos procesos celulares. Las células NRK-EGFP2-Nup50 son adecuadas para una serie de enfoques experimentales, como la recuperación de fluorescencia tras fotoblanqueo (FRAP), la espectroscopia de correlación de fluorescencia (FCS) y otras técnicas avanzadas de microscopía. Estos estudios pueden proporcionar información sobre los mecanismos moleculares del transporte nuclear y contribuir a la comprensión de las enfermedades asociadas con la disfunción del transporte nuclear, como ciertos tipos de cáncer y trastornos neurodegenerativos.

Organism Rata

Tissue Riñón

Synonyms NRK EGFP2-Nup50

Características

Breed/Subspecies OsborneMendel

Morphology Células similares a fibroblastos con forma fusiforme

Growth properties Monocapa, adherente

Datos reglamentarios

Citation NRK-EGFP2-Nup50 (número de catálogo de Cytion 500726)

Biosafety level 1

Células NRK-EGFP2-Nup50 | 500726**NCBI_TaxID** 10116**CellosaurusAccession** CVCL_AV93**Depositor** Laboratorio Ellenberg (EMBL)**Datos biomoleculares****Receptors expressed** Factor de crecimiento epidérmico (EGF), actividad estimulante de la multiplicación (MSA)**Protein expression** EGFP3-Nup50**Products** NUP50 (Nucleoporina 50)**Manejo de****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L de glucosa, w: 4 mM de L-glutamina, w: 3,7 g/L de NaHCO₃, w: 1,0 mM de piruvato sódico (número de artículo de Cytion 820300a)**Supplements** Suplementar el medio con 10% FBS, 0,5 mg/mL G418**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Deseche el medio antiguo y lave las células con PBS. Añadir una solución de tripsina al 0,025%/0,02% EDTA recién preparada y calentada a 37 grados Celsius y esperar hasta que las células se desprendan, lo que suele tardar unos 5 minutos. Neutralizar la tripsina añadiendo medio fresco, luego transferir la mezcla celular a un tubo y centrifugar. Tras la centrifugación, eliminar el sobrenadante, resuspender el sedimento celular en medio de cultivo fresco y transferir la suspensión a nuevos matraces. Incorporar G418 al medio de cultivo para alcanzar una concentración final de 0,5 mg/ml**Split ratio** Se recomienda una proporción de 1:3 a 1:4**Seeding density** De 2 a 4 x 10⁴ células/cm²**Fluid renewal** de 2 a 3 veces por semana

Células NRK-EGFP2-Nup50 | 500726

Freeze medium

Como medio de criopreservación, utilizamos el medio de crecimiento completo (incluido FBS) + 10% DMSO para una viabilidad adecuada tras la descongelación, o CM-1 (número de catálogo 800100 de Cytion), que incluye osmoprotectores optimizados y estabilizadores metabólicos para mejorar la recuperación y reducir el estrés crioinducido.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que el vial permanece profundamente congelado en el momento de la entrega, ya que las células se envían en hielo seco para mantener temperaturas óptimas durante el transporte.
2. Tras la recepción, almacene el criovial inmediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantizar la conservación de la integridad celular, o proceda al paso 3 si se requiere el cultivo inmediato.
3. Para el cultivo inmediato, descongele rápidamente el vial sumergiéndolo en un baño de agua a 37°C con agua limpia y un agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos hasta que quede un pequeño grumo de hielo.
4. Realice todos los pasos siguientes en condiciones estériles en una campana de flujo, desinfectando el criovial con etanol al 70% antes de abrirlo.
5. Abrir con cuidado el vial desinfectado y transferir la suspensión celular a un tubo de centrifuga de 15 ml que contenga 8 ml de medio de cultivo a temperatura ambiente, mezclando suavemente.
6. Centrifugar la mezcla a 300 x g durante 3 minutos para separar las células y desechar cuidadosamente el sobrenadante que contiene medio de congelación residual.
7. Resuspender suavemente el sedimento celular en 10 ml de medio de cultivo fresco. Para las células adherentes, dividir la suspensión entre dos matraces de cultivo T25; para los cultivos en suspensión, transferir todo el medio a un matraz T25 para promover la interacción y el crecimiento celular efectivos.
8. Siga los protocolos de subcultivo establecidos para el crecimiento y mantenimiento continuos de la línea celular, garantizando resultados experimentales fiables.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%_{CO2}, atmósfera humidificada.

Flask Coating

Ninguno

Freezing Procedure

Las líneas celulares criopreservadas se envían en hielo seco en envases validados y aislados con suficiente refrigerante para mantener aproximadamente -78 °C durante el tránsito. A la recepción, inspeccione el envase inmediatamente y transfiera los viales sin demora al almacenamiento adecuado.

Células NRK-EGFP2-Nup50 | 500726

Shipping Conditions

Las líneas celulares crioconservadas se envían en hielo seco en envases validados y aislados con suficiente refrigerante para mantener aproximadamente -78 °C durante el tránsito. A la recepción, inspeccione el envase inmediatamente y transfiera los viales sin demora al almacenamiento adecuado.

Storage Conditions

Para la conservación a largo plazo, coloque los viales en nitrógeno líquido en fase vapor a una temperatura aproximada de -150 a -196 °C. El almacenamiento a -80 °C sólo es aceptable como breve paso intermedio antes de la transferencia al nitrógeno líquido.

Control de calidad / Perfil genético / HLA

Sterility

La contaminación por micoplasma se excluye utilizando tanto ensayos basados en la PCR como métodos de detección de micoplasma basados en la luminiscencia.

Para garantizar la ausencia de contaminación bacteriana, fúngica o por levaduras, los cultivos celulares se someten a inspecciones visuales diarias.