

**Células NRK-EGFP3-Seh1 | 500731****Informações gerais****Description**

A linha celular NRK-EGFP3-Seh1 é uma linha clonal estável derivada de células normais de rim de rato (NRK). Esta linha celular foi gerada através da transfecção de um plasmídeo circular que codifica a proteína de fusão EGFP3-Seh1. Após a transfecção, as células foram selecionadas para resistência aos medicamentos, assegurando o estabelecimento de uma população estável que expressasse a construção desejada.

Aproximadamente 50% das células desta população expressam EGFP3-Seh1, uma proteína de fusão que combina a proteína fluorescente verde melhorada (EGFP) com Seh1, uma proteína componente do complexo do poro nuclear. A presença de EGFP facilita a visualização e o rastreamento da proteína de fusão no interior das células, permitindo aos investigadores estudar a dinâmica e a função de Seh1 em vários processos celulares. No entanto, a expressão de EGFP3-Seh1 nesta linha celular apresenta alguma variação, indicando variabilidade nos níveis de expressão entre células individuais dentro da população.

Esta linha celular é particularmente útil para estudos que envolvam a montagem do complexo do poro nuclear, o transporte nucleocitoplasmático e o papel de Seh1 nestes processos. A fluorescência fornecida pelo EGFP permite a obtenção de imagens de células vivas e a análise em tempo real da localização e das interações das proteínas, tornando a NRK-EGFP3-Seh1 uma ferramenta valiosa para a biologia celular e a investigação molecular.

**Organism** Rato**Tissue** Rim**Synonyms** NRK EGFP3-Seh1**Caraterísticas****Breed/Subspecies** OsborneMendel**Morphology** Células semelhantes a fibroblastos com forma fusiforme**Growth properties** Monocamada, aderente**Dados regulamentares****Citation** NRK-EGFP3-Seh1 (número de catálogo 500731 da Cytion)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 10116

**Células NRK-EGFP3-Seh1 | 500731****CellosaurusAccession** CVCL\_AV94**Depositor** O Laboratório Ellenberg (EMBL)**Dados biomoleculares****Receptors expressed** Fator de crescimento epidérmico (EGF), atividade estimuladora da multiplicação (MSA)**Protein expression** EGFP3-Seh1**Products** Seh1 (Nucleoporina tipo SEH1)**Manuseamento****Culture Medium** DMEM, com: 4,5 g/L de glucose, com: 4 mM de L-Glutamina, com: 3,7 g/L de NaHCO<sub>3</sub>, com: 1,0 mM de piruvato de sódio (número de artigo Cytion 820300a)**Supplements** Suplementar o meio com 10% de FBS, 0,5 mg/mL de G418**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e, nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.**Split ratio** Recomenda-se uma proporção de 1:3 a 1:4**Seeding density** 2 a 4 x 10<sup>4</sup> células/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal** 2 a 3 vezes por semana**Freeze medium** Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

## Células NRK-EGFP3-Seh1 | 500731

### Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a  $-150^{\circ}\text{C}$  para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a  $37^{\circ}\text{C}$  com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfetando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfetado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a  $300 \times g$  durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , atmosfera humidificada.

### Flask Coating

Nenhum

### Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente  $-78^{\circ}\text{C}$  durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

## Células NRK-EGFP3-Seh1 | 500731

### Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

### Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

## Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

### Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspeções visuais diárias.