

## Células NRK-EGFP2-Nup50 | 500726

### Informações gerais

#### Description

A linha celular NRK-EGFP2-Nup50 é uma linha celular clonal estável derivada de células normais de rim de rato (NRK). Esta linha celular foi gerada através da transfecção de um plasmídeo circular que contém o gene que codifica a proteína de fusão da Enhanced Green Fluorescent Protein (EGFP) e da Nucleoporina 50 (Nup50), seguida de uma seleção de resistência aos medicamentos. Como resultado, aproximadamente 50% das células expressam a proteína de fusão EGFP3-Nup50, o que permite a visualização e o rastreamento da Nup50 no ambiente celular.

A Nup50 é um componente crítico do complexo do poro nuclear, responsável pela regulação do transporte de moléculas entre o núcleo e o citoplasma. A etiqueta EGFP3 permite a obtenção de imagens de células vivas e outras técnicas baseadas na fluorescência para estudar a localização, a dinâmica e as interações da Nup50. Apesar de ser uma linha celular estável, as células NRK-EGFP2-Nup50 apresentam alguma variação, indicando variabilidade nos níveis de expressão da proteína de fusão EGFP3-Nup50 entre as células.

Esta linha celular é particularmente valiosa para a investigação centrada no transporte nucleocitoplasmático, na dinâmica do complexo do poro nuclear e no papel funcional da Nup50 em vários processos celulares. As células NRK-EGFP2-Nup50 são adequadas para uma série de abordagens experimentais, incluindo a recuperação de fluorescência após fotodegradação (FRAP), a espectroscopia de correlação de fluorescência (FCS) e outras técnicas avançadas de microscopia. Estes estudos podem fornecer informações sobre os mecanismos moleculares do transporte nuclear e contribuir para a compreensão de doenças associadas à disfunção do transporte nuclear, como certos cânceros e doenças neurodegenerativas.

**Organism** Rato

**Tissue** Rim

**Synonyms** NRK EGFP2-Nup50

### Caraterísticas

**Breed/Subspecies** OsborneMendel

**Morphology** Células semelhantes a fibroblastos com forma fusiforme

**Growth properties** Monocamada, aderente

### Dados regulamentares

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

**Biosafety level** 1

**Células NRK-EGFP2-Nup50 | 500726****NCBI\_TaxID** 10116**CellosaurusAccession** CVCL\_AV93**Depositor** O Laboratório Ellenberg (EMBL)**Dados biomoleculares****Receptors expressed** Fator de crescimento epidérmico (EGF), atividade estimuladora da multiplicação (MSA)**Protein expression** EGFP3-Nup50**Products** NUP50 (Nucleoporina 50)**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** Deitar fora o meio antigo e lavar as células com PBS. Adicionar uma solução recém-preparada de tripsina a 0,025%/0,02% de EDTA aquecida a 37 graus Celsius e aguardar até que as células se desprendam, o que normalmente demora cerca de 5 minutos. Neutralizar a tripsina adicionando meio fresco e, em seguida, transferir a mistura de células para um tubo e centrifugar. Após a centrifugação, remover o sobrenadante, ressuspender o pellet de células em meio de cultura fresco e transferir a suspensão para novos frascos. Incorporar G418 no meio de cultura para obter uma concentração final de 0,5 mg/ml**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

## Células NRK-EGFP2-Nup50 | 500726

### 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.

### 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

## Células NRK-EGFP2-Nup50 | 500726

### Freezing Procedure

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.

### 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.