

Células NRK-EGFP-H2B | 500724**Informações gerais****Description**

A linha de células NRK-EGFP-H2B é uma variante geneticamente modificada de células normais de rim de rato (NRK) que expressam de forma estável a proteína fluorescente verde melhorada (EGFP) fundida com a histona H2B. Esta modificação permite a visualização em tempo real da cromatina e da dinâmica nuclear, tornando esta linha celular uma ferramenta inestimável para o estudo da progressão do ciclo celular, da mitose e da organização da cromatina. A expressão estável de EGFP-H2B fornece um sinal fluorescente brilhante e consistente, facilitando a imagiologia de células vivas de alta resolução e permitindo aos investigadores monitorizar eventos nucleares com grande precisão.

As células NRK, provenientes do tecido renal de um rato adulto, são amplamente utilizadas em biologia celular devido às suas características de crescimento robustas e comportamentos fisiológicos bem documentados. A introdução da proteína de fusão EGFP-H2B nestas células não altera significativamente o seu crescimento ou morfologia, permitindo condições experimentais fiáveis e reprodutíveis. Esta linha celular é particularmente útil em estudos da biologia das células renais, das respostas celulares ao stress e dos mecanismos de carcinogénese, dado o papel do rim na filtragem do sangue e na excreção de resíduos. Além disso, as capacidades de fluorescência das células NRK-EGFP-H2B podem ser aproveitadas em aplicações de rastreio de medicamentos para observar os efeitos dos medicamentos na proliferação celular e na morfologia nuclear em tempo real.

Organism Rato**Tissue** Rim**Synonyms** NRK EGFP-H2B**Caraterísticas****Breed/Subspecies** OsborneMendel**Morphology** Células semelhantes a fibroblastos com forma fusiforme**Growth properties** Monocamada, aderente**Dados regulamentares****Citation** NRK-EGFP-H2B (número de catálogo 500724 da Cytion)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10116

Células NRK-EGFP-H2B | 500724**CellosaurusAccession** CVCL_AV92**Depositor** O Laboratório Ellenberg (EMBL)**Dados biomoleculares****Receptors expressed** Fator de crescimento epidérmico (EGF), atividade estimuladora da multiplicação (MSA)**Protein expression** EGFP-H2B: Localização/Gene: 1..589 / Pcmv, 613..1329 / EGFP, 1387..1764 / H2B, 3001..3795 / KanR/NeoR**Products** Fator de crescimento epidérmico (EGF), atividade estimuladora da multiplicação (MSA), CMV Promotor Histona H2B, Neomicina, Fosfotransferase**Manuseamento****Culture Medium** DMEM, com: 4,5 g/L de glucose, com: 4 mM de L-Glutamina, com: 3,7 g/L de NaHCO₃, 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 10⁴ células/cm²**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-EGFP-H2B | 500724

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°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°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°C , 5% 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°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-EGFP-H2B | 500724

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.