

Células NRK-EGFP3-Seh1 | 500731

Información general

Description

La línea celular NRK-EGFP3-Seh1 es una línea clonal estable derivada de células renales normales de rata (NRK). Esta línea celular se generó mediante la transfección de un plásmido circular que codifica la proteína de fusión EGFP3-Seh1. Tras la transfección, las células se seleccionaron por su resistencia a los fármacos, lo que garantizó el establecimiento de una población estable que expresa el constructo deseado.

Aproximadamente el 50 % de las células de esta población expresan EGFP3-Seh1, una proteína de fusión que combina la proteína fluorescente verde mejorada (EGFP) con Seh1, un componente proteico del complejo de poros nucleares. La presencia de EGFP facilita la visualización y el seguimiento de la proteína de fusión dentro de las células, lo que permite a los investigadores estudiar la dinámica y la función de Seh1 en diversos procesos celulares. Sin embargo, la expresión de EGFP3-Seh1 en esta línea celular presenta cierta variabilidad, lo que indica diferencias en los niveles de expresión entre las células individuales de la población.

Esta línea celular es particularmente útil para estudios relacionados con el ensamblaje del complejo de poros nucleares, el transporte nucleocitoplasmático y el papel de Seh1 en estos procesos. La fluorescencia que proporciona la EGFP permite la obtención de imágenes de células vivas y el análisis en tiempo real de la localización y las interacciones de las proteínas, lo que convierte a NRK-EGFP3-Seh1 en una herramienta valiosa para la biología celular y la investigación molecular.

Organism Rata

Tissue Riñón

Synonyms NRK EGFP3-Seh1

Características

Breed/Subspecies OsborneMendel

Morphology Células similares a los fibroblastos con forma fusiforme

Growth properties Monocapa, adherente

Datos normativos

Citation NRK-EGFP3-Seh1 (número de catálogo de Cytion 500731)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10116

Células NRK-EGFP3-Seh1 | 500731**CellosaurusAccession** CVCL_AV94**Depositor** El Laboratorio Ellenberg (EMBL)**Datos biomoleculares****Receptors expressed** Factor de crecimiento epidérmico (EGF), actividad estimulante de la multiplicación (MSA)**Protein expression** EGFP3-Seh1**Products** Seh1 (nucleoporina similar a SEH1)**Manejo****Culture Medium** DMEM, p/v: 4,5 g/L de glucosa, p/v: 4 mM de L-glutamina, p/v: 3,7 g/L de NaHCO₃, p/v: 1,0 mM de piruvato de sodio (número de artículo de Cytion 820300a)**Supplements** Añade al medio un 10 % de FBS y 0,5 mg/mL de G418**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Retira el medio usado de las células adheridas y lávalas con PBS sin calcio ni magnesio. Para los frascos T25, usa de 3 a 5 ml de PBS, y para los frascos T75, usa de 5 a 10 ml. Luego, cubra las células por completo con Accutase, utilizando de 1 a 2 ml para los frascos T25 y 2,5 ml para los frascos T75. Deje que las células se incuben a temperatura ambiente durante 8 a 10 minutos para desprenderse. Después de la incubación, mezcla suavemente las células con 10 ml de medio para resuspenderlas; luego, centrifuga a 300xg durante 3 minutos. Deseche el sobrenadante, resuspenda las células en medio fresco y transfíralas a frascos nuevos que ya contengan medio fresco.**Seeding density** De 2 a 4 × 10⁴ células/cm²**Fluid renewal** De 2 a 3 veces por semana**Freeze medium** Como medio de criopreservación, utilizamos un medio de crecimiento completo (que incluye FBS) + 10 % de DMSO para garantizar una viabilidad adecuada tras la descongelación, o CM-1 (número de catálogo de Cytion 800100), que incluye osmoprotectores y estabilizadores metabólicos optimizados para mejorar la recuperación y reducir el estrés inducido por la criopreservación.

Células NRK-EGFP3-Seh1 | 500731

Thawing and Culturing Cells

1. Verifique que el vial se mantenga profundamente congelado al momento de la entrega, ya que las células se envían en hielo seco para mantener temperaturas óptimas durante el transporte.
2. Al recibirlo, almacene el criovial inmediatamente a temperaturas inferiores a $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ para garantizar la preservación de la integridad celular, o bien continúe con el paso 3 si se requiere un cultivo inmediato.
3. Para el cultivo inmediato, descongele rápidamente el vial sumergiéndolo en un baño de agua a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ con agua limpia y un agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40 a 60 segundos hasta que quede un pequeño trozo de hielo.
4. Realice todos los pasos posteriores en condiciones estériles bajo una cabina de flujo laminar, desinfectando el criovial con etanol al 70 % antes de abrirlo.
5. Abra con cuidado el vial desinfectado y transfiera 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. Centrifugue la mezcla a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar las células y deseche con cuidado el sobrenadante que contenga medio de congelación residual.
7. Resuspende suavemente el sedimento celular en 10 ml de medio de cultivo fresco. Para las células adherentes, divide la suspensión entre dos frascos de cultivo T25; para los cultivos en suspensión, transfiera todo el medio a un solo frasco T25 para promover una interacción y un crecimiento celular efectivos.
8. Siga los protocolos de subcultivo establecidos para el crecimiento y mantenimiento continuos de la línea celular, asegurando resultados experimentales confiables.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % de CO_2 , atmósfera humidificada.

Shipping Conditions

Las líneas celulares criopreservadas se envían en hielo seco, en un embalaje aislante validado que contiene suficiente refrigerante para mantener una temperatura de aproximadamente $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante todo el transporte. Al recibir el envío, revise el contenedor de inmediato y traslade los viales sin demora al lugar de almacenamiento adecuado.

Storage Conditions

Para la conservación a largo plazo, coloque los viales en nitrógeno líquido en fase de vapor a una temperatura de entre -150 y $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$, aproximadamente. El almacenamiento a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ solo es aceptable como un paso intermedio breve antes de transferirlos al nitrógeno líquido.

Células NRK-EGFP3-Seh1 | 500731

Control de calidad y análisis molecular

Sterility

Se descarta la contaminación por micoplasmas mediante ensayos basados en PCR y métodos de detección de micoplasmas basados en luminiscencia.

Para garantizar que no haya contaminación bacteriana, fúngica o por levaduras, los cultivos celulares se someten a inspecciones visuales diarias.