

Células NRK-EGFP2-Nup50 | 500726

Información general

Description

La línea celular NRK-EGFP2-Nup50 es una línea celular clonal estable derivada de células renales normales 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 fluorescente verde mejorada (EGFP) y la nucleoporina 50 (Nup50), seguida de una selección por resistencia a fármacos. Como resultado, aproximadamente el 50 % de las células expresan la proteína de fusión EGFP3-Nup50, lo que permite visualizar y rastrear la Nup50 dentro del entorno celular.

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

Esta línea celular es particularmente valiosa para investigaciones enfocadas 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 amplia gama de enfoques experimentales, incluyendo la recuperación de fluorescencia tras fotoblanqueo (FRAP), la espectroscopia de correlación de fluorescencia (FCS) y otras técnicas avanzadas de microscopía. Estos estudios pueden aportar información sobre los mecanismos moleculares del transporte nuclear y contribuir a la comprensión de enfermedades asociadas a 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 los fibroblastos con forma fusiforme

Growth properties Monocapa, adherente

Datos normativos

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

Células NRK-EGFP2-Nup50 | 500726

| | |
|-----------------------------|---------------------------------|
| Biosafety level | 1 |
| NCBI_TaxID | 10116 |
| CellosaurusAccession | CVCL_AV93 |
| Depositor | El 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

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 Deshazte del medio usado y lava las células con PBS. Agrega una solución recién preparada de 0,025 % de tripsina y 0,02 % de EDTA calentada a 37 grados Celsius y espera hasta que las células se desprendan, lo que suele tardar unos 5 minutos. Neutraliza la tripsina agregando medio fresco, luego transfiere la mezcla celular a un tubo y centrifuga. Después de la centrifugación, retira el sobrenadante, resuspende el sedimento celular en medio de cultivo fresco y transfiere la suspensión a nuevos frascos. Incorpora G418 al medio de cultivo para alcanzar una concentración final de 0,5 mg/ml.

Seeding density De 2 a 4 × 10⁴ células/cm²

Fluid renewal De 2 a 3 veces por semana

Células NRK-EGFP2-Nup50 | 500726

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.

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 °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 °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 centrífuga de 15 ml que contenga 8 ml de medio de cultivo a temperatura ambiente, mezclando suavemente.
6. Centrifugue la mezcla a 300 x 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, transfiere 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 °C, 5 % de CO₂, 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 °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.

Células NRK-EGFP2-Nup50 | 500726

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 °C, aproximadamente. El almacenamiento a -80 °C solo es aceptable como un paso intermedio breve antes de transferirlos al nitrógeno líquido.

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.