

Células NRK-Pom121-EGFP3 | 500669

Información general

Description

La línea celular NRK-Pom121-EGFP3 se deriva de células renales normales de rata (NRK) y ha sido modificada genéticamente para expresar la proteína de fusión Pom121-EGFP3. Pom121 es una nucleoporina transmembrana que forma parte integral del complejo de poros nucleares (NPC) y desempeña un papel crucial en el ensamblaje de la envoltura nuclear y en la función del NPC. La incorporación de la etiqueta de proteína fluorescente verde mejorada (EGFP3) facilita la visualización y el estudio de la dinámica, la localización y las interacciones de Pom121 dentro de las células vivas mediante microscopía de fluorescencia. Esto convierte a la línea celular NRK-Pom121-EGFP3 en una herramienta valiosa para investigar los mecanismos de transporte nuclear y la arquitectura del NPC.

Las células NRK, la línea parental de NRK-Pom121-EGFP3, se utilizan comúnmente en diversas aplicaciones de investigación debido a sus características de crecimiento estable y su morfología epitelial. La modificación para expresar Pom121-EGFP3 brinda a los investigadores un modelo sólido para examinar los mecanismos moleculares que subyacen al transporte nucleocitoplasmático, la organización estructural del NPC y su regulación durante la división y diferenciación celular. Además, esta línea celular puede utilizarse para estudiar los efectos de diversas perturbaciones genéticas y farmacológicas sobre la función del NPC, lo que ofrece información sobre enfermedades asociadas a defectos en el transporte nuclear, como el cáncer y los trastornos neurodegenerativos.

En general, la línea celular NRK-Pom121-EGFP3 representa una herramienta sofisticada en biología celular e investigación molecular, que brinda información de alta resolución sobre los procesos dinámicos que rigen las interacciones nucleocitoplasmáticas. Su capacidad para permitir la observación en tiempo real de los componentes del NPC en un contexto celular vivo la convierte en una herramienta invaluable para avanzar en nuestra comprensión de los mecanismos de transporte celular y sus implicaciones en la salud y la enfermedad.

Organism Rata

Tissue Riñón

Synonyms NRK Pom121-EGFP3, NRK Pom121-3EGFP, NRK-Pom121-3EGFP

Características

Breed/Subspecies OsborneMendel

Morphology Células similares a los fibroblastos con forma fusiforme

Growth properties Monocapa, adherente

Datos normativos

Citation NRK-Pom121-EGFP3 (número de catálogo de Cytion 500669)

Células NRK-Pom121-EGFP3 | 500669

| | |
|-----------------------------|---------------------------------|
| Biosafety level | 1 |
| NCBI_TaxID | 10116 |
| CellosaurusAccession | CVCL_AV96 |
| Depositor | El Laboratorio Ellenberg (EMBL) |

Datos biomoleculares

| | |
|----------------------------|--|
| Receptors expressed | Factor de crecimiento epidérmico (EGF), actividad estimulante de la multiplicación (MSA) |
| Protein expression | Pom121-EGFP3: Ubicación/Gen: 1..589 / Pcmv, 653..4250 / Pom121, 4251..4287 / nulo, 4318..6546 / 3EGFP, 7780..8574 / KanR/NeoR |
| Products | Factor de crecimiento epidérmico (EGF), actividad estimulante de la multiplicación (MSA), POM121, transmembrana, nucleoporina, promotor del CMV, neomicina, fosfotransferasa |

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 NaHCO ₃ , 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 × 10 ⁴ células/cm ² |
|------------------------|--|

| | |
|----------------------|---------------------------|
| Fluid renewal | De 2 a 3 veces por semana |
|----------------------|---------------------------|

Células NRK-Pom121-EGFP3 | 500669

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, 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 °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-Pom121-EGFP3 | 500669

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.