

Células NRK-EGFP3-Seh1 | 500731

Informações gerais

Description

A linhagem celular NRK-EGFP3-Seh1 é uma linhagem clonal estável derivada de células renais normais de rato (NRK). Essa linhagem celular foi gerada por meio da transfecção de um plasmídeo circular que codifica a proteína de fusão EGFP3-Seh1. Após a transfecção, as células foram selecionadas quanto à resistência a medicamentos, garantindo o estabelecimento de uma população estável que expressa a construção desejada.

Aproximadamente 50% das células dessa população expressam EGFP3-Seh1, uma proteína de fusão que combina a proteína fluorescente verde aprimorada (EGFP) com Seh1, um componente proteico do complexo de poros nucleares. A presença de EGFP facilita a visualização e o rastreamento da proteína de fusão dentro das células, permitindo que os pesquisadores estudem a dinâmica e a função da Seh1 em vários processos celulares. No entanto, a expressão de EGFP3-Seh1 nessa linhagem celular apresenta certa variação, indicando variabilidade nos níveis de expressão entre as células individuais da população.

Essa linhagem celular é particularmente útil para estudos envolvendo a montagem do complexo de poros nucleares, o transporte nucleocitoplasmático e o papel da Seh1 nesses processos. A fluorescência proporcionada pela EGFP permite a obtenção de imagens de células vivas e a análise em tempo real da localização e das interações das proteínas, tornando a NRK-EGFP3-Seh1 uma ferramenta valiosa para a biologia celular e a pesquisa molecular.

Organism Rato

Tissue Rim

Synonyms NRK EGFP3-Seh1

Características

Breed/Subspecies OsborneMendel

Morphology Células semelhantes a fibroblastos, com forma fusiforme

Growth properties Monocamada, aderente

Dados regulatórios

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

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10116

Células NRK-EGFP3-Seh1 | 500731**CellosaurusAccession** CVCL_AV94**Depositor** Laboratório Ellenberg (EMBL)**Dados biomoleculares****Receptors expressed** Fator de crescimento epidérmico (EGF), atividade estimuladora da multiplicação (MSA)**Protein expression** EGFP3-Seh1**Products** Seh1 (nucleoporina do tipo SEH1)**Manuseio****Culture Medium** DMEM, p/v: 4,5 g/L de glicose, p/v: 4 mM de L-glutamina, p/v: 3,7 g/L de NaHCO₃, p/v: 1,0 mM de piruvato de sódio (número de artigo da Cytion 820300a)**Supplements** Adicione ao meio 10% de FBS e 0,5 mg/mL de G418**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Remova o meio antigo das células aderentes e lave-as com PBS sem cálcio nem magnésio. Para frascos T25, use 3 a 5 ml de PBS; para frascos T75, use 5 a 10 ml. Em seguida, cubra as células completamente com Accutase, utilizando 1 a 2 ml para frascos T25 e 2,5 ml para frascos T75. Deixe as células incubarem à temperatura ambiente por 8 a 10 minutos para que se desprendam. Após a incubação, misture delicadamente as células com 10 ml de meio para ressuspender, depois centrifugue a 300xg por 3 minutos. Descarte o sobrenadante, ressuspenda as células em meio fresco e transfira-as para novos frascos que já contenham meio fresco.**Seeding density** 2 a 4 x 10⁴ células/cm²**Fluid renewal** 2 a 3 vezes por semana**Freeze medium** Como meio de criopreservação, utilizamos meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% de DMSO para garantir viabilidade adequada após o descongelamento, ou CM-1 (número de catálogo da Cytion 800100), que inclui osmoprotetores e estabilizadores metabólicos otimizados para melhorar a recuperação e reduzir o estresse induzido pela criopreservação.

Células NRK-EGFP3-Seh1 | 500731

Thawing and Culturing Cells

1. Verifique se o frasco permanece profundamente congelado no momento da entrega, pois as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após o recebimento, armazene o criovial imediatamente a temperaturas abaixo de -150 °C para garantir a preservação da integridade celular ou prossiga para a etapa 3, caso seja necessária a cultura imediata.
3. Para cultura imediata, descongele rapidamente o frasco imergindo-o em um banho-maria a 37 °C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente por 40 a 60 segundos até que reste apenas um pequeno pedaço de gelo.
4. Realize todas as etapas subsequentes em condições estéreis em uma cabine de fluxo, desinfetando o criovial com etanol a 70% antes de abri-lo.
5. Abra cuidadosamente o frasco desinfetado e transfira a suspensão celular para um tubo de centrifuga de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando delicadamente.
6. Centrifugue a mistura a 300 x g por 3 minutos para separar as células e descarte cuidadosamente o sobrenadante contendo o meio de congelamento residual.
7. Ressuspender suavemente o sedimento celular em 10 ml de meio de cultura fresco. Para células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; para culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 a fim de promover a interação e o crescimento celular eficazes.
8. Siga os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento contínuo e a manutenção da linhagem celular, garantindo resultados experimentais confiáveis.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5% de CO₂, atmosfera umidificada.

Shipping Conditions

As linhagens celulares criopreservadas são enviadas em gelo seco, em embalagens isoladas e validadas, com refrigerante suficiente para manter a temperatura em aproximadamente -78 °C durante todo o transporte. Ao receber a remessa, inspecione o recipiente imediatamente e transfira os frascos sem demora para o local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para preservação a longo prazo, coloque os frascos em nitrogênio líquido em fase de vapor a uma temperatura entre aproximadamente -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como uma etapa intermediária de curta duração antes da transferência para o nitrogênio líquido.

Controle de Qualidade e Análise Molecular

Células NRK-EGFP3-Seh1 | 500731

Sterility

A contaminação por micoplasma é descartada por meio de ensaios baseados em PCR e de métodos de detecção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não haja contaminação por bactérias, fungos ou leveduras, as culturas celulares são submetidas a inspeções visuais diárias.