

## Células NRK-EGFP2-Nup50 | 500726

### Informações gerais

#### Description

A linhagem celular NRK-EGFP2-Nup50 é uma linhagem celular clonal estável derivada de células renais normais de rato (NRK). Essa linha celular foi gerada por meio da transfecção de um plasmídeo circular contendo o gene que codifica a proteína de fusão da Proteína Fluorescente Verde Aprimorada (EGFP) e da Nucleoporina 50 (Nup50), seguida de seleção por resistência a medicamentos. Como resultado, aproximadamente 50% das células expressam a proteína de fusão EGFP3-Nup50, o que permite a visualização e o rastreamento da Nup50 no ambiente celular.

A Nup50 é um componente essencial do complexo de poros nucleares, responsável por regular o transporte de moléculas entre o núcleo e o citoplasma. A marca EGFP3 permite a imagem de células vivas e outras técnicas baseadas em fluorescência para estudar a localização, a dinâmica e as interações da Nup50. Apesar de ser uma linhagem celular estável, as células NRK-EGFP2-Nup50 apresentam certa variação, indicando variabilidade nos níveis de expressão da proteína de fusão EGFP3-Nup50 entre as células.

Essa linhagem celular é particularmente valiosa para pesquisas focadas no transporte nucleocitoplasmático, na dinâmica do complexo de poros nucleares e no papel funcional da Nup50 em vários processos celulares. As células NRK-EGFP2-Nup50 são adequadas para uma variedade de abordagens experimentais, incluindo recuperação de fluorescência após fotobranqueamento (FRAP), espectroscopia de correlação de fluorescência (FCS) e outras técnicas avançadas de microscopia. Esses estudos podem fornecer insights sobre os mecanismos moleculares do transporte nuclear e contribuir para a compreensão de doenças associadas à disfunção do transporte nuclear, como certos tipos de câncer e distúrbios neurodegenerativos.

**Organism** Rato

**Tissue** Rim

**Synonyms** NRK EGFP2-Nup50

### Características

**Breed/Subspecies** OsborneMendel

**Morphology** Células semelhantes a fibroblastos, com forma fusiforme

**Growth properties** Monocamada, aderente

### Dados regulatórios

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

**Biosafety level** 1

## Células NRK-EGFP2-Nup50 | 500726

**NCBI\_TaxID** 10116

**CellosaurusAccession** CVCL\_AV93

**Depositor** Laboratório Ellenberg (EMBL)

### Dados biomoleculares

**Receptors expressed** Fator de crescimento epidérmico (EGF), atividade estimuladora da multiplicação (MSA)

**Protein expression** EGFP3-Nup50

**Products** NUP50 (Nucleoporina 50)

### 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 NaHCO<sub>3</sub>, 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** Descarte o meio antigo e lave as células com PBS. Adicione uma solução recém-preparada de 0,025% de tripsina/0,02% de EDTA aquecida a 37 graus Celsius e aguarde até que as células se desprendam, o que geralmente leva cerca de 5 minutos. Neutralize a tripsina adicionando meio fresco e, em seguida, transfira a mistura celular para um tubo e centrifugue. Após a centrifugação, remova o sobrenadante, ressuspense o sedimento celular em meio de cultura fresco e transfira a suspensão para novos frascos. Incorpore G418 ao meio de cultura para atingir uma concentração final de 0,5 mg/ml

**Seeding density** 2 a 4 x 10<sup>4</sup> células/cm<sup>2</sup>

**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-EGFP2-Nup50 | 500726

### 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 CO<sub>2</sub>, 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-EGFP2-Nup50 | 500726

### **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.