

Células NRK-Pom121-EGFP3 | 500669

Informações gerais

Description

A linhagem celular NRK-Pom121-EGFP3 é derivada de células renais normais de rato (NRK) e foi geneticamente modificada para expressar a proteína de fusão Pom121-EGFP3. A Pom121 é uma nucleoporina transmembranar que constitui um componente integral do complexo de poros nucleares (NPC), desempenhando um papel crucial na montagem do envelope nuclear e no funcionamento do NPC. A inclusão da marca da proteína fluorescente verde aprimorada (EGFP3) facilita a visualização e o estudo da dinâmica, localização e interações da Pom121 em células vivas por meio da microscopia de fluorescência. Isso torna a linhagem celular NRK-Pom121-EGFP3 uma ferramenta valiosa para investigar os mecanismos de transporte nuclear e a arquitetura do NPC.

As células NRK, a linhagem parental da NRK-Pom121-EGFP3, são comumente utilizadas em diversas aplicações de pesquisa devido às suas características de crescimento estável e morfologia epitelial. A modificação para expressar Pom121-EGFP3 oferece aos pesquisadores um modelo robusto para examinar os mecanismos moleculares subjacentes ao transporte nucleocitoplasmático, a organização estrutural do NPC e sua regulação durante a divisão e diferenciação celular. Além disso, essa linhagem celular pode ser utilizada para estudar os efeitos de diversas perturbações genéticas e farmacológicas sobre a função do NPC, oferecendo insights sobre doenças associadas a defeitos no transporte nuclear, como câncer e distúrbios neurodegenerativos.

De modo geral, a linha celular NRK-Pom121-EGFP3 representa uma ferramenta sofisticada na biologia celular e na pesquisa molecular, proporcionando insights de alta resolução sobre os processos dinâmicos que regem as interações nucleocitoplasmáticas. Sua capacidade de permitir a observação em tempo real dos componentes do NPC em um contexto celular vivo a torna inestimável para o avanço de nossa compreensão dos mecanismos de transporte celular e suas implicações na saúde e na doença.

Organism Rato

Tissue Rim

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

Características

Breed/Subspecies OsborneMendel

Morphology Células semelhantes a fibroblastos, com forma fusiforme

Growth properties Monocamada, aderente

Dados regulatórios

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

Células NRK-Pom121-EGFP3 | 500669**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10116**CellosaurusAccession** CVCL_AV96**Depositor** Laboratório Ellenberg (EMBL)**Dados biomoleculares****Receptors expressed** Fator de crescimento epidérmico (EGF), atividade estimuladora da multiplicação (MSA)**Protein expression** Pom121-EGFP3: Localização/Gene: 1..589 / Pcmv, 653..4250 / Pom121, 4251..4287 / nulo, 4318..6546 / 3EGFP, 7780..8574 / KanR/NeoR**Products** Fator de crescimento epidérmico (EGF), atividade estimuladora da multiplicação (MSA), POM121, transmembrana, nucleoporina, promotor do CMV, neomicina, fosfotransferase**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** 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, ressuspensa 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 10⁴ células/cm²**Fluid renewal** 2 a 3 vezes por semana

Células NRK-Pom121-EGFP3 | 500669

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.

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 centrífuga 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.

Células NRK-Pom121-EGFP3 | 500669

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

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.