NRK-EGFP2-Nup50

500726

INFORMAÇÕES GERAIS

Descrição

A linha celular NRK-EGFP2-Nup50 é uma linha celular clonal estável derivada de células normais de rim de rato (NRK). Esta linha celular foi gerada através da transfecção de um plasmídeo circular que contém o gene que codifica a proteína de fusão da Enhanced Green Fluorescent Protein (EGFP) e da Nucleoporina 50 (Nup50), seguida de uma seleção de resistência aos medicamentos. Como resultado, aproximadamente 50% das células expressam a proteína de fusão EGFP3-Nup50, o que permite a visualização e o rastreio da Nup50 no ambiente celular.
A Nup50 é um componente crítico do complexo do poro nuclear, responsável pela regulação do transporte de moléculas entre o núcleo e o citoplasma. A etiqueta EGFP3 permite a obtenção de imagens de células vivas e outras técnicas baseadas na fluorescência para estudar a localização, a dinâmica e as interações da Nup50. Apesar de ser uma linha celular estável, as células NRK-EGFP2-Nup50 apresentam alguma variegação, indicando variabilidade nos níveis de expressão da proteína de fusão EGFP3-Nup50 entre as células.
Esta linha celular é particularmente valiosa para a investigação centrada no transporte nucleocitoplasmático, na dinâmica do complexo do poro nuclear e no papel funcional da Nup50 em vários processos celulares. As células NRK-EGFP2-Nup50 são adequadas para uma série de abordagens experimentais, incluindo a recuperação de fluorescência após fotodegradação (FRAP), a espetroscopia de correlação de fluorescência (FCS) e outras técnicas avançadas de microscopia. Estes estudos podem fornecer informações sobre os mecanismos moleculares do transporte nuclear e contribuir para a compreensão de doenças associadas à disfunção do transporte nuclear, como certos cancros e doenças neurodegenerativas.

Tecido	Rim

Sinónimos

- NRK EGFP2-Nup50

CLASSIFICAÇÃO

Organismo	Rato
Propriedades de crescimento	Aderente
Nível de biossegurança	1

CARACTERÍSTICAS

Morfologia	Células semelhantes a fibroblastos com forma fusiforme

IDENTIFICADORES

Referência

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

Número de identificação fiscal do NCBI	10116
Cellosaurus	CVCL_AV93
Depositante	O Laboratório Ellenberg (EMBL)

EXPRESSÃO E SUSCETIBILIDADE

Receptores expressos

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

Expressão proteica

EGFP3-Nup50

Produtos

NUP50 (Nucleoporina 50)

MANUSEAMENTO E CULTURA

Meio de cultura

DMEM, com: 4,5 g/L de glucose, com: 4 mM de L-Glutamina, com: 3,7 g/L de NaHCO3, com: 1,0 mM de piruvato de sódio (número de artigo Cytion 820300a)

Atmosfera de incubação	37°C, 5%CO2, atmosfera humidificada.

Suplementos

Suplementar o meio com 10% de FBS, 0,5 mg/mL de G418

Reagente de dissociação	Accutase

Subcultura

Deitar fora o meio antigo e lavar as células com PBS. Adicionar uma solução recém-preparada de tripsina a 0,025%/0,02% de EDTA aquecida a 37 graus Celsius e aguardar até que as células se desprendam, o que normalmente demora cerca de 5 minutos. Neutralizar a tripsina adicionando meio fresco e, em seguida, transferir a mistura de células para um tubo e centrifugar. Após a centrifugação, remover o sobrenadante, ressuspender o pellet de células em meio de cultura fresco e transferir a suspensão para novos frascos. Incorporar G418 no meio de cultura para obter uma concentração final de 0,5 mg/ml

Densidade de sementeira	2 a 4 x 10^4 células/cm^2
Renovação de fluidos	2 a 3 vezes por semana

Descongelamento e cultura

Confirm that the vial remains deeply frozen upon delivery, as cells are shipped on dry ice to maintain optimal temperatures during transit.
Upon receipt, either store the cryovial immediately at temperatures below -150°C to ensure the preservation of cellular integrity, or proceed to step 3 if immediate culturing is required.
For immediate culturing, swiftly thaw the vial by immersing it in a 37°C water bath with clean water and an antimicrobial agent, agitating gently for 40-60 seconds until a small ice clump remains.
Perform all subsequent steps under sterile conditions in a flow hood, disinfecting the cryovial with 70% ethanol before opening.
Carefully open the disinfected vial and transfer the cell suspension into a 15 ml centrifuge tube containing 8 ml of room-temperature culture medium, mixing gently.
Centrifuge the mixture at 300 x g for 3 minutes to separate the cells and carefully discard the supernatant containing residual freezing medium.
Gently resuspend the cell pellet in 10 ml of fresh culture medium. For adherent cells, divide the suspension between two T25 culture flasks; for suspension cultures, transfer all the medium into one T25 flask to promote effective cell interaction and growth.
Adhere to established subculture protocols for continued growth and maintenance of the cell line, ensuring reliable experimental outcomes.

CONTROLO DE QUALIDADE E CRIOPRESERVAÇÃO

Esterilidade

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.
Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.

Meio de congelação	Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores optimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Condições de armazenamento

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Condições de envio

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

DOADOR

Raça / subespécie	OsborneMendel

ASPECTOS LEGAIS E DE SEGURANÇA

Precauções de segurança

Quando se planeia armazenar um criovial em nitrogénio líquido para descongelação futura, é obrigatório aderir a medidas de segurança rigorosas. Luvas e vestuário de proteção adequados são essenciais, e a utilização de uma máscara facial ou óculos de segurança é necessária durante a transferência de amostras congeladas para ou do tanque de nitrogénio líquido. Isto destina-se a mitigar o risco de ferimentos provocados por potenciais explosões de crioviais após a remoção, que podem resultar na projeção de fragmentos afiados.

Aviso legal

As nossas células são fornecidas exclusivamente para fins de investigação laboratorial in vitro e não se destinam a utilização clínica ou de diagnóstico, nem devem ser administradas a seres humanos ou utilizadas para fins veterinários. Os utilizadores devem aderir a todas as diretrizes e regulamentos aplicáveis para o manuseamento e utilização destas células num ambiente de investigação.

Garantia

Na Cytion, nós garantimos a qualidade e a viabilidade de nossos produtos.
Garantimos que nossas células serão viáveis no início da cultura por 60 dias após o envio de nossas instalações.
Asseguramos que todos os materiais estão em conformidade com as especificações descritas no Certificado de Análise e/ou Folha de Produto
Para mais informações, consulte a nossa <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Declaração de Garantia

Aplicam-se os acordos com terceiros	Yes