NRK-EGFP3-Seh1

500731

INFORMAÇÕES GERAIS

Descrição

A linha celular NRK-EGFP3-Seh1 é uma linha clonal estável derivada de células normais de rim de rato (NRK). Esta linha celular foi gerada através da transfecção de um plasmídeo circular que codifica a proteína de fusão EGFP3-Seh1. Após a transfecção, as células foram selecionadas para resistência aos medicamentos, assegurando o estabelecimento de uma população estável que expressasse a construção desejada.
Aproximadamente 50% das células desta população expressam EGFP3-Seh1, uma proteína de fusão que combina a proteína fluorescente verde melhorada (EGFP) com Seh1, uma proteína componente do complexo do poro nuclear. A presença de EGFP facilita a visualização e o rastreio da proteína de fusão no interior das células, permitindo aos investigadores estudar a dinâmica e a função de Seh1 em vários processos celulares. No entanto, a expressão de EGFP3-Seh1 nesta linha celular apresenta alguma variação, indicando variabilidade nos níveis de expressão entre células individuais dentro da população.
Esta linha celular é particularmente útil para estudos que envolvam a montagem do complexo do poro nuclear, o transporte nucleocitoplasmático e o papel de Seh1 nestes processos. A fluorescência fornecida pelo 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 investigação molecular.

Tecido	Rim

Sinónimos

- NRK EGFP3-Seh1

CLASSIFICAÇÃO

Organismo	Rato
Propriedades de crescimento	Aderente
Nível de biossegurança	1

CARACTERÍSTICAS

Morfologia	Células semelhantes a fibroblastos com forma fusiforme

IDENTIFICADORES

Referência

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

Número de identificação fiscal do NCBI	10116
Cellosaurus	CVCL_AV94
Depositante	O Laboratório Ellenberg (EMBL)

EXPRESSÃO E SUSCETIBILIDADE

Receptores expressos

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

Expressão proteica

EGFP3-Seh1

Produtos

Seh1 (Nucleoporina tipo SEH1)

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

Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.

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