NRK-EGFP3-Seh1

500731

GENERAL INFORMATION

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.

Tissue	Rim

Synonyms

- NRK EGFP3-Seh1

CLASSIFICATION

Organism	Rat
Growth properties	Adherent
Biosafety level	1

CHARACTERISTICS

Morphology	Células semelhantes a fibroblastos, com forma fusiforme

IDENTIFIERS

Citation

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

NCBI TaxID	10116
Cellosaurus	CVCL_AV94
Depositor	Laboratório Ellenberg (EMBL)

EXPRESSION AND SUSCEPTIBILITY

Receptors expressed

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

Protein expression

EGFP3-Seh1

Products

Seh1 (nucleoporina do tipo SEH1)

HANDLING AND CULTURE

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 $NaHCO_3$, p/v: 1,0 mM de piruvato de sódio (número de artigo da Cytion 820300a)

Incubation atmosphere	37 °C, 5% de CO_2, atmosfera umidificada.

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 10^4 células/cm^2
Fluid renewal	2 a 3 vezes por semana

Thawing and culturing

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.

QUALITY CONTROL AND CRYOPRESERVATION

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.

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.

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.

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.

DONOR

Breed / subspecies	OsborneMendel

LEGAL AND SAFETY

Safety precautions

Ao planejar o armazenamento de um criotubo em nitrogênio líquido para descongelamento futuro, é obrigatório seguir medidas de segurança rigorosas. É essencial o uso de luvas e roupas de proteção adequadas, além do uso obrigatório de máscara facial ou óculos de proteção durante a transferência de amostras congeladas para dentro ou para fora do tanque de nitrogênio líquido. Isso visa mitigar o risco de ferimentos decorrentes de possíveis explosões dos criotubos durante a remoção, o que pode resultar na projeção de fragmentos pontiagudos.

Disclaimer

Nossas células são fornecidas exclusivamente para fins de pesquisa laboratorial in vitro e não se destinam ao uso clínico ou diagnóstico, nem devem ser administradas a seres humanos ou utilizadas para fins veterinários. Os usuários devem cumprir todas as diretrizes e regulamentações aplicáveis ao manuseio e uso dessas células em um ambiente de pesquisa.

Warranty

Na Cytion, garantimos a qualidade e a viabilidade de nossos produtos.
Garantimos que nossas células permanecerão 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 na Ficha Técnica do Produto.
Para obter todos os detalhes, consulte nossa
Declaração de Garantia.

Third-party agreements apply	Yes