

Cellules NRK-EGFP3-Seh1 | 500731

Informations générales

Description

La lignée cellulaire NRK-EGFP3-Seh1 est une lignée clonale stable dérivée de cellules rénales de rats normaux (NRK). Cette lignée cellulaire a été générée par transfection d'un plasmide circulaire codant pour la protéine de fusion EGFP3-Seh1. Après la transfection, les cellules ont été sélectionnées pour leur résistance aux médicaments, assurant ainsi l'établissement d'une population stable exprimant la construction souhaitée.

Environ 50 % des cellules de cette population expriment EGFP3-Seh1, une protéine de fusion combinant la protéine fluorescente verte améliorée (EGFP) et Seh1, une protéine composant le complexe du pore nucléaire. La présence d'EGFP facilite la visualisation et le suivi de la protéine de fusion dans les cellules, ce qui permet aux chercheurs d'étudier la dynamique et la fonction de Seh1 dans divers processus cellulaires. Cependant, l'expression d'EGFP3-Seh1 dans cette lignée cellulaire présente une certaine variabilité, indiquant une variabilité des niveaux d'expression parmi les cellules individuelles au sein de la population.

Cette lignée cellulaire est particulièrement utile pour les études portant sur l'assemblage du complexe du pore nucléaire, le transport nucléocytoplasmique et le rôle de Seh1 dans ces processus. La fluorescence fournie par EGFP permet l'imagerie des cellules vivantes et l'analyse en temps réel de la localisation et des interactions des protéines, ce qui fait de NRK-EGFP3-Seh1 un outil précieux pour la biologie cellulaire et la recherche moléculaire.

Organism Rat

Tissue Rein

Synonyms NRK EGFP3-Seh1

Caractéristiques

Breed/Subspecies OsborneMendel

Morphology Cellules de forme fusiforme ressemblant à des fibroblastes

Growth properties Monocouche, adhérente

Données réglementaires

Citation NRK-EGFP3-Seh1 (numéro de catalogue Cytion 500731)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10116

Cellules NRK-EGFP3-Seh1 | 500731

CellosaurusAccession CVCL_AV94**Depositor** Le laboratoire Ellenberg (EMBL)**Données biomoléculaires****Receptors expressed** Facteur de croissance épidermique (EGF), activité stimulant la multiplication (MSA)**Protein expression** EGFP3-Seh1**Products** Seh1 (Nucléoporine de type SEH1)**Manipulation****Culture Medium** DMEM, w : 4.5 g/L Glucose, w : 4 mM L-Glutamine, w : 3.7 g/L NaHCO₃, w : 1.0 mM Pyruvate de sodium (numéro d'article Cytion 820300a)**Supplements** Compléter le milieu avec 10 % de FBS, 0,5 mg/mL de G418**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Retirer l'ancien milieu des cellules adhérentes et les laver avec du PBS dépourvu de calcium et de magnésium. Pour les flacons T25, utiliser 3-5 ml de PBS, et pour les flacons T75, 5-10 ml. Ensuite, recouvrir complètement les cellules avec Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laisser les cellules incuber à température ambiante pendant 8-10 minutes pour les détacher. Après incubation, mélanger délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifuger à 300xg pendant 3 minutes. Jeter le surnageant, remettre les cellules en suspension dans du milieu frais et les transférer dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.**Split ratio** Un rapport de 1:3 à 1:4 est recommandé**Seeding density** 2 à 4 x 10⁴ cellules/cm²**Fluid renewal** 2 à 3 fois par semaine**Freeze medium** Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (comprenant du FBS) + 10 % de DMSO pour une viabilité adéquate après décongélation, ou CM-1 (numéro de catalogue 800100 de Cytion), qui comprend des osmoprotectants et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryogénéisation.

Cellules NRK-EGFP3-Seh1 | 500731

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.
4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules et jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre doucement en suspension le culot cellulaire dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension entre deux flacons de culture T25 ; pour les cultures en suspension, transférer tout le milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance efficaces des cellules.
8. Respecter les protocoles de sous-culture établis pour une croissance et un entretien continus de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, atmosphère humidifiée.

Flask Coating

Aucun

Freezing Procedure

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Cellules NRK-EGFP3-Seh1 | 500731

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle de qualité / Profil génétique / HLA

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes basées sur la luminescence.

Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.