

**Cellules NRK-EGFP2-Nup50 | 500726****Informations générales****Description**

La lignée cellulaire NRK-EGFP2-Nup50 est une lignée cellulaire clonale stable dérivée de cellules rénales de rats normaux (NRK). Cette lignée cellulaire a été générée par transfection d'un plasmide circulaire contenant le gène codant pour la protéine de fusion de la protéine fluorescente verte améliorée (EGFP) et de la nucléoporine 50 (Nup50), suivie d'une sélection de la résistance aux médicaments. En conséquence, environ 50 % des cellules expriment la protéine de fusion EGFP3-Nup50, ce qui permet la visualisation et le suivi de la Nup50 dans l'environnement cellulaire.

Nup50 est un composant essentiel du complexe du pore nucléaire, qui est responsable de la régulation du transport des molécules entre le noyau et le cytoplasme. L'étiquette EGFP3 permet l'imagerie de cellules vivantes et d'autres techniques basées sur la fluorescence pour étudier la localisation, la dynamique et les interactions de Nup50. Bien qu'il s'agisse d'une lignée cellulaire stable, les cellules NRK-EGFP2-Nup50 présentent une certaine variabilité, ce qui indique une variabilité des niveaux d'expression de la protéine de fusion EGFP3-Nup50 entre les cellules.

Cette lignée cellulaire est particulièrement utile pour la recherche axée sur le transport nucléocytoplasmique, la dynamique du complexe du pore nucléaire et le rôle fonctionnel de Nup50 dans divers processus cellulaires. Les cellules NRK-EGFP2-Nup50 se prêtent à une série d'approches expérimentales, notamment la récupération de la fluorescence après photoblanchiment (FRAP), la spectroscopie de corrélation de fluorescence (FCS) et d'autres techniques de microscopie avancées. Ces études peuvent fournir des informations sur les mécanismes moléculaires du transport nucléaire et contribuer à la compréhension des maladies associées à un dysfonctionnement du transport nucléaire, telles que certains cancers et troubles neurodégénératifs.

**Organism** Rat**Tissue** Rein**Synonyms** NRK EGFP2-Nup50**Caractéristiques****Breed/Subspecies** OsborneMendel**Morphology** Cellules de forme fusiforme ressemblant à des fibroblastes**Growth properties** Monocouche, adhérente**Données réglementaires****Citation** NRK-EGFP2-Nup50 (numéro de catalogue Cytion 500726)

## Cellules NRK-EGFP2-Nup50 | 500726

<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	10116
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_AV93
<b>Depositor</b>	Le laboratoire Ellenberg (EMBL)

## Données biomoléculaires

**Receptors expressed** Facteur de croissance épidermique (EGF), activité stimulant la multiplication (MSA)

**Protein expression** EGFP3-Nup50

**Products** NUP50 (Nucléoporine 50)

## Manipulation

**Culture Medium** DMEM, w : 4.5 g/L Glucose, w : 4 mM L-Glutamine, w : 3.7 g/L NaHCO<sub>3</sub>, 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** Jeter l'ancien milieu et laver les cellules avec du PBS. Ajouter une solution fraîchement préparée de 0,025 % de trypsine/0,02 % d'EDTA chauffée à 37 degrés Celsius et attendre que les cellules se détachent, ce qui prend généralement environ 5 minutes. Neutraliser la trypsine en ajoutant du milieu frais, puis transférer le mélange de cellules dans un tube et centrifuger. Après centrifugation, éliminer le surnageant, remettre le culot cellulaire en suspension dans du milieu de culture frais et transférer la suspension dans de nouveaux flacons. Incorporer G418 dans le milieu de culture pour obtenir une concentration finale de 0,5 mg/ml

**Split ratio** Un rapport de 1:3 à 1:4 est recommandé

**Seeding density** 2 à 4 x 10<sup>4</sup> cellules/cm<sup>2</sup>

**Fluid renewal** 2 à 3 fois par semaine

## Cellules NRK-EGFP2-Nup50 | 500726

### 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.

### 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%  $\text{CO}_2$ , atmosphère humidifiée.

### Flask Coating

Aucun

## Cellules NRK-EGFP2-Nup50 | 500726

### 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.

### 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.