

**Cellules NRK-Pom121-EGFP3 | 500669****Informations générales****Description**

La lignée cellulaire NRK-Pom121-EGFP3 est dérivée de cellules rénales normales de rat (NRK) et est génétiquement modifiée pour exprimer la protéine de fusion Pom121-EGFP3. Pom121 est une nucléoporine transmembranaire qui fait partie intégrante du complexe du pore nucléaire (CPN) et joue un rôle crucial dans l'assemblage de l'enveloppe nucléaire et la fonction du CPN. L'inclusion de la protéine fluorescente verte améliorée (EGFP3) facilite la visualisation et l'étude de la dynamique, de la localisation et des interactions de Pom121 dans les cellules vivantes grâce à la microscopie à fluorescence. Cela fait de la lignée cellulaire NRK-Pom121-EGFP3 un outil précieux pour l'étude des mécanismes de transport nucléaire et de l'architecture du NPC.

Les cellules NRK, la lignée cellulaire parentale de NRK-Pom121-EGFP3, sont couramment utilisées dans diverses applications de recherche en raison de leurs caractéristiques de croissance stables et de leur morphologie épithéliale. La modification pour exprimer Pom121-EGFP3 fournit aux chercheurs un modèle robuste pour examiner les mécanismes moléculaires qui sous-tendent le transport nucléocytoplasmique, l'organisation structurelle du NPC et sa régulation au cours de la division et de la différenciation cellulaires. En outre, cette lignée cellulaire peut être utilisée pour étudier les effets de diverses perturbations génétiques et pharmacologiques sur la fonction du NPC, ce qui permet de mieux comprendre les maladies associées à des défauts de transport nucléaire, telles que le cancer et les troubles neurodégénératifs.

Dans l'ensemble, la lignée cellulaire NRK-Pom121-EGFP3 représente un outil sophistiqué en biologie cellulaire et en recherche moléculaire, qui permet d'obtenir des informations à haute résolution sur les processus dynamiques régissant les interactions nucléocytoplasmiques. Sa capacité à permettre l'observation en temps réel des composants du NPC dans un contexte cellulaire vivant la rend inestimable pour faire progresser notre compréhension des mécanismes de transport cellulaire et de leurs implications dans la santé et la maladie.

**Organism** Rat**Tissue** Rein**Synonyms** NRK Pom121-EGFP3, NRK Pom121-3EGFP, NRK-Pom121-3EGFP**Caractéristiques****Breed/Subspecies** OsborneMendel**Morphology** Cellules de forme fusiforme ressemblant à des fibroblastes**Growth properties** Monocouche, adhérente**Données réglementaires****Citation** NRK-Pom121-EGFP3 (numéro de catalogue Cytion 500669)

## Cellules NRK-Pom121-EGFP3 | 500669

<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	10116
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_AV96
<b>Depositor</b>	Le laboratoire Ellenberg (EMBL)

## Données biomoléculaires

<b>Receptors expressed</b>	Facteur de croissance épidermique (EGF), activité stimulant la multiplication (MSA)
<b>Protein expression</b>	Pom121-EGFP3 : Localisation/Gène : 1..589 / Pcmv, 653..4250 / Pom121, 4251..4287 / null, 4318..6546 / 3EGFP, 7780..8574 / KanR/NeoR
<b>Products</b>	Facteur de croissance épidermique (EGF), activité stimulant la multiplication (MSA), POM121, Transmembrane, Nucléopore, Promoteur CMV, Néomycine, Phosphotransférase

## Manipulation

<b>Culture Medium</b>	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)
-----------------------	---

<b>Supplements</b>	Compléter le milieu avec 10 % de FBS, 0,5 mg/mL de G418
--------------------	---

<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
-----------------------------	----------

<b>Subculturing</b>	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
---------------------	---

<b>Split ratio</b>	Un rapport de 1:3 à 1:4 est recommandé
--------------------	--

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

<b>Fluid renewal</b>	2 à 3 fois par semaine
----------------------	------------------------

## Cellules NRK-Pom121-EGFP3 | 500669

### 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

Pour une fixation et une viabilité optimales après décongélation, nous recommandons d'utiliser des **flacons ou des plaques recouverts de collagène**.

## Cellules NRK-Pom121-EGFP3 | 500669

### 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.

### Profil STR

**Rat\_D1Wox31:** 96,100  
**Rat\_D2Wox37:** 156  
**Rat\_D19Wox11:** 220  
**Rat\_D10Wox8:** 266,270  
**Rat\_D4Wox7:** 153,157  
**Rat\_D2Wox27:** 211  
**Rat\_D5Rat33:** 116,138  
**Rat\_D10Wox11:** 156  
**Rat\_D1Wox23:** 210,214  
**Rat\_D12Wox1:** 402,406  
**Rat\_D6Wox2:** 104,124  
**Rat\_D8Wox7:** 185  
**Rat\_D6Cebr1:** 221,233  
**SRY:** x,Y