

Cellules NRK-EGFP3-Seh1 | 500731

Renseignements généraux

Description

La lignée cellulaire NRK-EGFP3-Seh1 est une lignée clonale stable dérivée de cellules rénales normales de rat (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, ce qui a permis d'établir une population stable exprimant la construction souhaitée.

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

Cette lignée cellulaire est particulièrement utile pour les études portant sur l'assemblage du complexe des pores nucléaires, le transport nucléocytoplasmique et le rôle de Seh1 dans ces processus. La fluorescence fournie par l'EGFP permet l'imagerie de cellules vivantes et l'analyse en temps réel de la localisation et des interactions des protéines, faisant 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 type fibroblastes de forme fusiforme

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 stimulatrice de la multiplication (MSA)**Protein expression** EGFP3-Seh1**Products** Seh1 (nucléoporine de type SEH1)**Manipulation****Culture Medium** DMEM, p/v : 4,5 g/L de glucose, p/v : 4 mM de L-glutamine, p/v : 3,7 g/L de NaHCO₃, p/v : 1,0 mM de pyruvate de sodium (référence Cytion 820300a)**Supplements** Ajouter au milieu 10 % de FBS et 0,5 mg/mL de G418**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Retirez l'ancien milieu des cellules adhérentes et lavez-les avec du PBS sans calcium ni magnésium. Pour les flacons T25, utilisez 3 à 5 ml de PBS, et pour les flacons T75, utilisez 5 à 10 ml. Ensuite, recouvrez complètement les cellules d'Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laissez les cellules incuber à température ambiante pendant 8 à 10 minutes afin de les détacher. Après l'incubation, mélangez délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifugez à 300 x g pendant 3 minutes. Éliminez le surnageant, remettez les cellules en suspension dans du milieu frais, puis transférez-les dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.**Seeding density** de 2 à 4×10^4 cellules/cm²**Fluid renewal** 2 à 3 fois par semaine**Freeze medium** Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (contenant du sérum foetal bovin) + 10 % de DMSO pour assurer une viabilité adéquate après décongélation, ou du CM-1 (référence Cytion 800100), qui contient des osmoprotecteurs et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryoconservation.

Cellules NRK-EGFP3-Seh1 | 500731

Thawing and Culturing Cells

1. Assurez-vous que le flacon reste bien congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche afin de maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. À la réception, conservez immédiatement le cryofiole à une température inférieure à -150 °C pour garantir la préservation de l'intégrité cellulaire, ou passez à l'étape 3 si une culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une culture immédiate, décongelez rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37 °C contenant de l'eau propre et un agent antimicrobien, en agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit morceau de glace.
4. Effectuez toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux laminaire, en désinfectant le cryotube avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrez avec précaution le flacon désinfecté et transférez la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant délicatement.
6. Centrifuger le mélange à $300 \times g$ pendant 3 minutes pour séparer les cellules, puis jeter avec précaution le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre délicatement le culot cellulaire en suspension dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension dans deux flacons de culture T25; pour les cultures en suspension, transférer la totalité du milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance cellulaires efficaces.
8. Respectez les protocoles de sous-culture établis pour assurer la croissance continue et le maintien de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37 °C , 5 % de CO_2 , atmosphère humidifiée.

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées dans de la glace sèche, dans un emballage isotherme validé contenant suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C pendant tout le transport. À la réception, inspectez immédiatement le conteneur et transférez sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

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

Cellules NRK-EGFP3-Seh1 | 500731

Contrôle de la qualité et analyse moléculaire

Sterility

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

Afin de s'assurer qu'il n'y a aucune contamination bactérienne, fongique ou par des levures, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.