

Cellules NRK-EGFP2-Nup50 | 500726**Renseignements généraux****Description**

La lignée cellulaire NRK-EGFP2-Nup50 est une lignée cellulaire clonale stable dérivée de cellules rénales normales de rat (NRK). Cette lignée cellulaire a été générée par la 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 pour la résistance aux médicaments. Par conséquent, environ 50 % des cellules expriment la protéine de fusion EGFP3-Nup50, ce qui permet la visualisation et le suivi de la Nup50 au sein de l'environnement cellulaire.

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

Cette lignée cellulaire est particulièrement utile pour la recherche axée sur le transport nucléocytoplasmique, la dynamique du complexe des pores nucléaires et le rôle fonctionnel de Nup50 dans divers processus cellulaires. Les cellules NRK-EGFP2-Nup50 se prêtent à toute une gamme 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 apporter des éclaircissements sur les mécanismes moléculaires du transport nucléaire et contribuer à la compréhension des maladies associées à un dysfonctionnement de ce transport, telles que certains cancers et troubles neurodégénératifs.

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

Cellules NRK-EGFP2-Nup50 | 500726

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10116
CellosaurusAccession	CVCL_AV93
Depositor	Le laboratoire Ellenberg (EMBL)

Données biomoléculaires

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

Protein expression EGFP3-Nup50

Products NUP50 (nucléoporine 50)

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 Jetez l'ancien milieu et lavez les cellules avec du PBS. Ajouter une solution fraîchement préparée de 0,025 % de trypsine et 0,02 % d'EDTA, chauffée à 37 degrés Celsius, et attendre que les cellules se détachent, ce qui prend habituellement environ 5 minutes. Neutraliser la trypsine en ajoutant du milieu frais, puis transférer le mélange cellulaire dans un tube et centrifuger. Après la centrifugation, retirer le surnageant, remettre le culot cellulaire en suspension dans du milieu de culture frais, puis transférer la suspension dans de nouveaux flacons. Incorporer du G418 dans le milieu de culture pour obtenir une concentration finale de 0,5 mg/ml.

Seeding density de 2 à 4 × 10⁴ cellules/cm²

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 (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.

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 x 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 CO₂, 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.

Cellules NRK-EGFP2-Nup50 | 500726

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.

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.