

Cellules NRK-Pom121-EGFP3 | 500669**Renseignements généraux****Description**

La lignée cellulaire NRK-Pom121-EGFP3 est dérivée de cellules rénales normales de rat (NRK) et a été génétiquement modifiée pour exprimer la protéine de fusion Pom121-EGFP3. Pom121 est une nucléoporine transmembranaire qui fait partie intégrante du complexe des pores nucléaires (NPC) et joue un rôle crucial dans l'assemblage de l'enveloppe nucléaire et le fonctionnement du NPC. L'ajout du marqueur « protéine fluorescente verte améliorée » (EGFP3) facilite la visualisation et l'étude de la dynamique, de la localisation et des interactions de Pom121 au sein de cellules vivantes par 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, lignée parente de la lignée 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 visant à exprimer Pom121-EGFP3 offre aux chercheurs un modèle robuste pour examiner les mécanismes moléculaires sous-jacents au transport nucléocytoplasmique, l'organisation structurale du NPC et sa régulation au cours de la division et de la différenciation cellulaires. De plus, cette lignée cellulaire peut servir à étudier les effets de diverses perturbations génétiques et pharmacologiques sur la fonction du NPC, offrant ainsi un aperçu des maladies associées à des anomalies du transport nucléaire, telles que le cancer et les troubles neurodégénératifs.

Dans l'ensemble, la lignée cellulaire NRK-Pom121-EGFP3 constitue un outil sophistiqué en biologie cellulaire et en recherche moléculaire, fournissant des informations de haute résolution sur les processus dynamiques régissant les interactions nucléo-cytoplasmiques. Sa capacité à permettre l'observation en temps réel des composants du NPC dans un contexte cellulaire vivant en fait un outil inestimable pour faire progresser notre compréhension des mécanismes de transport cellulaire et de leurs implications pour 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 type fibroblastes de forme fusiforme**Growth properties** Monocouche, adhérente**Données réglementaires****Citation** NRK-Pom121-EGFP3 (numéro de catalogue Cytion 500669)

Cellules NRK-Pom121-EGFP3 | 500669

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10116
CellosaurusAccession	CVCL_AV96
Depositor	Le laboratoire Ellenberg (EMBL)

Données biomoléculaires

Receptors expressed	Facteur de croissance épidermique (EGF), activité stimulatrice de la multiplication (MSA)
Protein expression	Pom121-EGFP3 : Emplacement/gène : 1..589 / Pcmv, 653..4250 / Pom121, 4251..4287 / nul, 4318..6546 / 3EGFP, 7780..8574 / KanR/NeoR
Products	Facteur de croissance épidermique (EGF), activité stimulatrice de la multiplication (MSA), POM121, protéine transmembranaire, nucléopore, promoteur du CMV, néomycine, phosphotransférase

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 NaHCO ₃ , 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 × 10 ⁴ cellules/cm ²
Fluid renewal	2 à 3 fois par semaine

Cellules NRK-Pom121-EGFP3 | 500669

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-Pom121-EGFP3 | 500669

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.