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.

Tissu	Rein

Synonymes

- NRK EGFP2-Nup50

CLASSIFICATION

Organisme	Rat
Propriétés de croissance	Adepte
Niveau de biosécurité	1

CARACTÉRISTIQUES

Morphologie	Cellules de forme fusiforme ressemblant à des fibroblastes

IDENTIFIANTS

Référence

NRK-EGFP2-Nup50 (numéro de catalogue Cytion 500726)

Numéro d'identification fiscale NCBI	10116
Cellosaurus	CVCL_AV93
Déposant	Le laboratoire Ellenberg (EMBL)

EXPRESSION ET SENSIBILITÉ

Récepteurs exprimés

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

Expression des protéines

EGFP3-Nup50

Produits

NUP50 (Nucléoporine 50)

MANIPULATION ET CULTURE

Milieu de culture

DMEM, w : 4.5 g/L Glucose, w : 4 mM L-Glutamine, w : 3.7 g/L NaHCO3, w : 1.0 mM Pyruvate de sodium (numéro d'article Cytion 820300a)

Atmosphère d'incubation	37°C, 5%CO2, atmosphère humidifiée.

Compléments alimentaires

Compléter le milieu avec 10 % de FBS, 0,5 mg/mL de G418

Réactif de dissociation	Accutase

Repiquage

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

Densité de semis	2 à 4 x 10^4 cellules/cm^2
Renouvellement des fluides	2 à 3 fois par semaine

Décongélation et mise en culture

Confirm that the vial remains deeply frozen upon delivery, as cells are shipped on dry ice to maintain optimal temperatures during transit.
Upon receipt, either store the cryovial immediately at temperatures below -150°C to ensure the preservation of cellular integrity, or proceed to step 3 if immediate culturing is required.
For immediate culturing, swiftly thaw the vial by immersing it in a 37°C water bath with clean water and an antimicrobial agent, agitating gently for 40-60 seconds until a small ice clump remains.
Perform all subsequent steps under sterile conditions in a flow hood, disinfecting the cryovial with 70% ethanol before opening.
Carefully open the disinfected vial and transfer the cell suspension into a 15 ml centrifuge tube containing 8 ml of room-temperature culture medium, mixing gently.
Centrifuge the mixture at 300 x g for 3 minutes to separate the cells and carefully discard the supernatant containing residual freezing medium.
Gently resuspend the cell pellet in 10 ml of fresh culture medium. For adherent cells, divide the suspension between two T25 culture flasks; for suspension cultures, transfer all the medium into one T25 flask to promote effective cell interaction and growth.
Adhere to established subculture protocols for continued growth and maintenance of the cell line, ensuring reliable experimental outcomes.

CONTRÔLE QUALITÉ ET CRYOCONSERVATION

Stérilité

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.

Milieu de congélation	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 cryogénisation.

Conditions de stockage

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.

Conditions de livraison

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.

DONATEUR

Race / sous-espèce	OsborneMendel

ASPECTS JURIDIQUES ET SÉCURITÉ

Consignes de sécurité

Lorsque l'on envisage de stocker un cryovial dans l'azote liquide en vue d'une décongélation ultérieure, il est obligatoire de respecter des mesures de sécurité rigoureuses. Des gants et des vêtements de protection appropriés sont indispensables, et l'utilisation d'un masque facial ou de lunettes de sécurité est requise pendant le transfert des échantillons congelés vers ou depuis le réservoir d'azote liquide. Ceci afin de réduire le risque de blessures dues à l'explosion potentielle des cryoviaux lors de leur retrait, qui peut entraîner la projection de fragments tranchants.

Avertissement

Nos cellules sont fournies exclusivement à des fins de recherche in vitro en laboratoire et ne sont pas destinées à un usage clinique ou diagnostique, ni à être administrées à des êtres humains ou utilisées à des fins vétérinaires. Les utilisateurs doivent se conformer à toutes les directives et réglementations applicables à la manipulation et à l'utilisation de ces cellules dans un cadre de recherche.

Garantie

Chez Cytion, nous nous portons garants de la qualité et de la viabilité de nos produits.
Nous garantissons que nos cellules seront viables au début de la culture pendant 60 jours après l'expédition de nos installations.
Nous assurons que tous les matériaux sont conformes aux spécifications décrites dans le certificat d'analyse et/ou la fiche produit
Pour plus de détails, veuillez consulter notre <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default""> Déclaration de garantie

Les accords conclus avec des tiers s'appliquent	Yes