

**Buňky NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 | 500672****Obecné informace****Description**

Buněčná linie NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 je klonální stabilní buněčná linie odvozená z buněk normální krysí ledviny (NRK) transfekcí cirkulárního plazmidu. Tento plazmid obsahuje genetické konstrukty kódující čtyři tandemové repetice vazebných míst RNA lambda N22 a tři tandemové repetice značek mEGFP (monomerní zesílený zelený fluorescenční protein) sloučené s jaderným lokalizačním signálem M9. Po transfekci byly buňky podrobeny selekci na rezistenci vůči lékům, aby byla zajištěna stabilita genetických modifikací.

Přibližně 50 % buněk této klonální stabilní linie exprimuje fluorescenční značku 4xλN22-3xmEGFP-M9, což svědčí o úspěšném začlenění plazmidu. Expres tohoto markeru umožňuje vizualizaci nitrobuněčných procesů v reálném čase, což usnadňuje robustní fluorescenční signál mEGFP. Jaderný lokalizační signál M9 zajišťuje, že exprimované fúzní proteiny jsou transportovány do jádra, díky čemuž je tato buněčná linie zvláště užitečná pro studium jaderně-cytoplazmatického transportu, dynamiky RNA a regulace genové exprese.

Tato buněčná linie NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 je cenná pro výzkumníky, kteří se zaměřují na interakce proteinů vázajících RNA, metabolismus RNA a mechanismy, které jsou základem jaderného importu a exportu. Přítomnost markeru mEGFP umožňuje pokročilé zobrazovací techniky, jako je konfokální mikroskopie a zobrazování živých buněk, které poskytují podrobný pohled na prostorovou a časovou dynamiku buněčných složek. Navzdory pestrosti zůstává buněčná linie mocným nástrojem pro pitvání složitých molekulárních drah a pochopení buněčných funkcí na hlubší úrovni.

**Organism** Krysy**Tissue** Ledviny**Synonyms** NRK 4xλN22-3xmEGFP-M9**Charakteristika****Breed/Subspecies** OsborneMendel**Morphology** Fibroblastům podobné buňky s fusiformním tvarem**Growth properties** Monovrstva, adherentní**Regulační údaje****Citation** NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 (katalogové číslo Cytion 500672)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 10116

**Buňky NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 | 500672****CellosaurusAccession** CVCL\_AV97**Depositor** Ellenbergova laboratoř (EMBL)**Biomolekulární data****Receptors expressed** Epidermální růstový faktor (EGF), multiplikační stimulační aktivita (MSA)**Protein expression** 4xλN22-3xmEGFP-M9: Umístění/geny: 937..1009, 1066..1138, 1194..1261, 1323..1390 / lambda peptid, 1462..2176, 2179..2890, 2896..3612 / mEGFP, 3612..3815 / M9-His, 5090..5884 / KanR/NeoR, 7195..584 / Pcmv**Products** M9-His značka mezi BsrG1/HindIII, neomycin, fosfotransferáza, CMV promotor**Zpracování****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutaminu, w: 3,7 g/l NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)**Supplements** Doplněte médium 10% FBS, 0,5 mg/ml G418**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Staré médium zlikvidujte a buňky promyjte PBS. Přidejte čerstvě připravený 0,025% roztok trypsinu/0,02% EDTA zahřátý na 37 °C a počkejte, dokud se buňky neoddělí, což obvykle trvá asi 5 minut. Neutralizujte trypsin přidáním čerstvého média, poté přeneste směs buněk do zkumavky a odstředte. Po odstředění odeberte supernatant, resuspendujte buněčnou peletu v čerstvém kultivačním médiu a suspenzi přeneste do nových baněk. Přidejte G418 do kultivačního média, abyste dosáhli konečné koncentrace 0,5 mg/ml**Split ratio** Doporučuje se poměr 1:3 až 1:4**Seeding density** 2 až 4 x 10<sup>4</sup> buněk/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal** 2 až 3krát týdně**Freeze medium** Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

**Buňky NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 | 500672****Thawing and  
Culturing Cells**

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

**Incubation  
Atmosphere**

37 °C, 5 %  $\text{CO}_2$ , zvlhčená atmosféra.

**Flask Coating**

Žádný

**Freezing  
Procedure**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

**Shipping  
Conditions**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

## Buňky NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 | 500672

### Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

## Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

### Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuální kontrolám.

### Profil STR

**Rat\_D1Wox31:** 96,1  
**Rat\_D2Wox37:** 150,156  
**Rat\_D19Wox11:** 220  
**Rat\_D10Wox8:** 266,27  
**Rat\_D4Wox7:** 153,157  
**Rat\_D2Wox27:** 211,215  
**Rat\_D5Rat33:** 122,138  
**Rat\_D10Wox11:** 156  
**Rat\_D1Wox23:** 210,214  
**Rat\_D12Wox1:** 402,406  
**Rat\_D6Wox2:** 104,124  
**Rat\_D8Wox7:** 185  
**Rat\_D6Cebr1:** 223,233  
**SRY:** x,Y