

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

### Allgemeine Informationen

#### Description

Die NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9-Zelllinie ist eine klonale stabile Zelllinie, die aus normalen Rattennierenzellen (NRK) durch Transfektion eines zirkulären Plasmids gewonnen wird. Dieses Plasmid enthält genetische Konstrukte, die für vier Tandem-Wiederholungen von Lambda-N22-RNA-Bindungsstellen und drei Tandem-Wiederholungen von mEGFP-Tags (monomeres, verstärkt grün fluoreszierendes Protein) kodieren, die mit dem M9-Kernlokalisierungssignal fusioniert sind. Nach der Transfektion wurden die Zellen einer Selektion auf Arzneimittelresistenz unterzogen, um die Stabilität der genetischen Veränderungen zu gewährleisten.

Etwa 50 % der Zellen in dieser klonalen stabilen Linie exprimieren den Fluoreszenzmarker 4xλN22-3xmEGFP-M9, was auf eine erfolgreiche Inkorporation des Plasmids hinweist. Die Expression dieses Markers ermöglicht eine Echtzeit-Visualisierung intrazellulärer Prozesse, die durch das robuste Fluoreszenzsignal von mEGFP erleichtert wird. Das M9-Kernlokalisierungssignal stellt sicher, dass die exprimierten Fusionsproteine in den Zellkern transportiert werden, was diese Zelllinie besonders nützlich für die Untersuchung des Kern-Zytoplasma-Transports, der RNA-Dynamik und der Regulation der Genexpression macht.

Diese NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9-Zelllinie ist wertvoll für Forscher, die sich mit RNA-bindenden Protein-Interaktionen, RNA-Stoffwechsel und den Mechanismen des Kernimports und -exports beschäftigen. Das Vorhandensein des mEGFP-Markers ermöglicht fortschrittliche bildgebende Verfahren wie konfokale Mikroskopie und Live-Cell-Imaging, die detaillierte Einblicke in die räumliche und zeitliche Dynamik der zellulären Komponenten ermöglichen. Trotz der Vielfalt bleibt die Zelllinie ein leistungsfähiges Instrument für die Entschlüsselung komplexer molekularer Wege und das Verständnis zellulärer Funktionen auf einer tieferen Ebene.

**Organism** Ratte

**Tissue** Niere

**Synonyms** NRK 4xλN22-3xmEGFP-M9

### Merkmale

**Breed/Subspecies** OsborneMendel

**Morphology** Fibroblastenähnliche Zellen mit fusiformer Form

**Growth properties** Monolayer, haftend

### Regulatorische Daten

**Citation** NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 (Cytion-Katalognummer 500672)

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

<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	10116
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_AV97
<b>Depositor</b>	Das Ellenberg-Labor (EMBL)

## Biomolekulare Daten

<b>Receptors expressed</b>	Epidermaler Wachstumsfaktor (EGF), Multiplikationsstimulierende Aktivität (MSA)
<b>Protein expression</b>	4xλN22-3xmEGFP-M9: Ort/Gen: 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
<b>Products</b>	M9-His-Tag zwischen BsrG1/HindIII, Neomycin, Phosphotransferase, CMV-Promotor

## Handhabung

<b>Culture Medium</b>	DMEM, w: 4,5 g/L Glucose, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO <sub>3</sub> , w: 1,0 mM Natriumpyruvat (Cytion-Artikelnummer 820300a)
<b>Supplements</b>	Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS, 0,5 mg/mL G418

<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
-----------------------------	----------

**Subculturing** Verwerfen Sie das alte Medium und waschen Sie die Zellen mit PBS. Geben Sie eine frisch zubereitete, auf 37 Grad Celsius erhitzte 0,025%ige Trypsin/0,02%ige EDTA-Lösung hinzu und warten Sie, bis sich die Zellen ablösen, was in der Regel etwa 5 Minuten dauert. Neutralisieren Sie das Trypsin durch Zugabe von frischem Medium, überführen Sie das Zellgemisch in ein Röhrchen und zentrifugieren Sie es. Nach der Zentrifugation den Überstand abnehmen, das Zellpellet in frischem Kulturmedium resuspendieren und die Suspension in neue Kolben überführen. G418 in das Kulturmedium einbringen, um eine Endkonzentration von 0,5 mg/ml zu erreichen

<b>Split ratio</b>	Empfohlen wird ein Verhältnis von 1:3 bis 1:4
--------------------	---

<b>Seeding density</b>	2 bis 4 x 10 <sup>4</sup> Zellen/cm <sup>2</sup>
------------------------	--

<b>Fluid renewal</b>	2 bis 3 Mal pro Woche
----------------------	-----------------------

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

### Freeze medium

Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

### Thawing and Culturing Cells

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein  $37^{\circ}\text{C}$  warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei  $300 \times g$ , um die Zellen abzutrennen, und werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhärennten Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , befeuchtete Atmosphäre.

### Flask Coating

Keine

### Freezing Procedure

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

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

### Shipping Conditions

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

### Storage Conditions

Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

## Qualitätskontrolle / Genetisches Profil / HLA

### Sterility

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.

Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.

### STR-Profil

**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