

Células NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 | 500672**Información general****Description**

La línea celular NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 es una línea celular clonal estable derivada de células normales de riñón de rata (NRK) mediante la transfección de un plásmido circular. Este plásmido contiene construcciones genéticas que codifican cuatro repeticiones en tándem de sitios de unión a ARN lambda N22 y tres repeticiones en tándem de etiquetas mEGFP (proteína verde fluorescente monomérica mejorada) fusionadas con la señal de localización nuclear M9. Tras la transfección, las células se sometieron a una selección de resistencia a fármacos para garantizar la estabilidad de las modificaciones genéticas.

Aproximadamente el 50% de las células de esta línea clonal estable expresan el marcador fluorescente 4xλN22-3xmEGFP-M9, lo que indica la correcta incorporación del plásmido. La expresión de este marcador permite la visualización en tiempo real de los procesos intracelulares, facilitada por la robusta señal fluorescente de la mEGFP. La señal de localización nuclear M9 asegura que las proteínas de fusión expresadas son transportadas al núcleo, lo que hace que esta línea celular sea particularmente útil para estudiar el transporte nuclear-citoplasmático, la dinámica del ARN y la regulación de la expresión génica.

Esta línea celular NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 es valiosa para los investigadores que se centran en las interacciones entre proteínas de unión a ARN, el metabolismo del ARN y los mecanismos subyacentes a la importación y exportación nuclear. La presencia del marcador mEGFP permite el uso de técnicas de imagen avanzadas como la microscopía confocal y la imagen de células vivas, lo que proporciona una visión detallada de la dinámica espacial y temporal de los componentes celulares. A pesar de la variegación, la línea celular sigue siendo una poderosa herramienta para diseccionar vías moleculares complejas y comprender las funciones celulares a un nivel más profundo.

Organism Rata**Tissue** Riñón**Synonyms** NRK 4xλN22-3xmEGFP-M9**Características****Breed/Subspecies** OsborneMendel**Morphology** Células similares a fibroblastos con forma fusiforme**Growth properties** Monocapa, adherente**Datos reglamentarios****Citation** NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 (número de catálogo de Cytion 500672)

Células NRK-4xλN22-3xmEGFP-M9 | 500672

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10116
CellosaurusAccession	CVCL_AV97
Depositor	Laboratorio Ellenberg (EMBL)

Datos biomoleculares

Receptors expressed	Factor de crecimiento epidérmico (EGF), actividad estimulante de la multiplicación (MSA)
Protein expression	4xλN22-3xmEGFP-M9: Localización/Gen: 937..1009, 1066..1138, 1194..1261, 1323..1390 / péptido lambda, 1462..2176, 2179..2890, 2896..3612 / mEGFP, 3612..3815 / M9-His, 5090..5884 / KanR/NeoR, 7195..584 / Pcmv
Products	Etiqueta M9-His entre BsrG1/HindIII, Neomicina, Fosfotransferasa, Promotor CMV

Manejo de

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L de glucosa, w: 4 mM de L-glutamina, w: 3,7 g/L de NaHCO ₃ , w: 1,0 mM de piruvato sódico (número de artículo de Cytion 820300a)
Supplements	Suplementar el medio con 10% FBS, 0,5 mg/mL G418

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

Subculturing	Deseche el medio antiguo y lave las células con PBS. Añadir una solución de tripsina al 0,025%/0,02% EDTA recién preparada y calentada a 37 grados Celsius y esperar hasta que las células se desprendan, lo que suele tardar unos 5 minutos. Neutralizar la tripsina añadiendo medio fresco, luego transferir la mezcla celular a un tubo y centrifugar. Tras la centrifugación, eliminar el sobrenadante, resuspender el sedimento celular en medio de cultivo fresco y transferir la suspensión a nuevos matraces. Incorporar G418 al medio de cultivo para alcanzar una concentración final de 0,5 mg/ml
---------------------	--

Split ratio	Se recomienda una proporción de 1:3 a 1:4
--------------------	---

Seeding density	De 2 a 4 x 10 ⁴ células/cm ²
------------------------	--

Fluid renewal	de 2 a 3 veces por semana
----------------------	---------------------------

Células NRK-4λN22-3xEGFP-M9 | 500672

Freeze medium

Como medio de criopreservación, utilizamos el medio de crecimiento completo (incluido FBS) + 10% DMSO para una viabilidad adecuada tras la descongelación, o CM-1 (número de catálogo 800100 de Cytion), que incluye osmoprotectores optimizados y estabilizadores metabólicos para mejorar la recuperación y reducir el estrés crioinducido.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que el vial permanece profundamente congelado en el momento de la entrega, ya que las células se envían en hielo seco para mantener temperaturas óptimas durante el transporte.
2. Tras la recepción, almacene el criovial inmediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantizar la conservación de la integridad celular, o proceda al paso 3 si se requiere el cultivo inmediato.
3. Para el cultivo inmediato, descongele rápidamente el vial sumergiéndolo en un baño de agua a 37°C con agua limpia y un agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos hasta que quede un pequeño grumo de hielo.
4. Realice todos los pasos siguientes en condiciones estériles en una campana de flujo, desinfectando el criovial con etanol al 70% antes de abrirlo.
5. Abrir con cuidado el vial desinfectado y transferir la suspensión celular a un tubo de centrifuga de 15 ml que contenga 8 ml de medio de cultivo a temperatura ambiente, mezclando suavemente.
6. Centrifugar la mezcla a 300 x g durante 3 minutos para separar las células y desechar cuidadosamente el sobrenadante que contiene medio de congelación residual.
7. Resuspender suavemente el sedimento celular en 10 ml de medio de cultivo fresco. Para las células adherentes, dividir la suspensión entre dos matraces de cultivo T25; para los cultivos en suspensión, transferir todo el medio a un matraz T25 para promover la interacción y el crecimiento celular efectivos.
8. Siga los protocolos de subcultivo establecidos para el crecimiento y mantenimiento continuos de la línea celular, garantizando resultados experimentales fiables.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%_{CO2}, atmósfera humidificada.

Flask Coating

Ninguno

Freezing Procedure

Las líneas celulares criopreservadas se envían en hielo seco en envases validados y aislados con suficiente refrigerante para mantener aproximadamente -78 °C durante el tránsito. A la recepción, inspeccione el envase inmediatamente y transfiera los viales sin demora al almacenamiento adecuado.

Células NRK-4 λ N22-3xmEGFP-M9 | 500672

Shipping Conditions

Las líneas celulares crioconservadas se envían en hielo seco en envases validados y aislados con suficiente refrigerante para mantener aproximadamente -78 °C durante el tránsito. A la recepción, inspeccione el envase inmediatamente y transfiera los viales sin demora al almacenamiento adecuado.

Storage Conditions

Para la conservación a largo plazo, coloque los viales en nitrógeno líquido en fase vapor a una temperatura aproximada de -150 a -196 °C. El almacenamiento a -80 °C sólo es aceptable como breve paso intermedio antes de la transferencia al nitrógeno líquido.

Control de calidad / Perfil genético / HLA

Sterility

La contaminación por micoplasma se excluye utilizando tanto ensayos basados en la PCR como métodos de detección de micoplasma basados en la luminiscencia.

Para garantizar la ausencia de contaminación bacteriana, fúngica o por levaduras, los cultivos celulares se someten a inspecciones visuales diarias.

Perfil de 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