

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

## Üldine teave

## Description

NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 rakuliin on kloonalne stabiilne rakuliin, mis on saadud normaalsete rottide neerude (NRK) rakkudest ringikujulise plasmidi transfektsiooni teel. See plasmid sisaldab geneetilisi konstruktsioone, mis kodeerivad neli tandemkordust lambda N22 RNA sidumiskohti ja kolm tandemkordust mEGFP (monomeeriline tugevdatud roheline fluorestseeruv valk) märgist, mis on fikseeritud M9 tuuma lokaliseerimissignaali. Pärast transfektsiooni läbisid rakud ravimresistentsuse valiku, et tagada geneetiliste modifikatsioonide stabiilsus.

Ligikaudu 50% selle kloonalse stabiilse liini rakkudest ekspresseerib fluorestseerivat markerit 4xλN22-3xmEGFP-M9, mis näitab plasmidi edukat inkorporeerimist. Selle markeri ekspressioon võimaldab rakusiseste protsesside visualiseerimist reaajas, mida hõlbustab mEGFP tugev fluorestseeruv signaal. M9 tuuma lokaliseerimissignaal tagab, et ekspresseeritud fusioonivalgud transporditakse tuumasse, mistõttu on see rakuliin eriti kasulik tuuma-sütoplasma transpordi, RNA dünaamika ja geeniekspressiooni regulatsiooni uurimiseks.

See NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 rakuliin on väärtuslik teadlastele, kes keskenduvad RNA-siduva valguga interaktsioonidele, RNA metabolismile ning tuumaimpordi ja -ekspordi aluseks olevatele mehhanismidele. MEGFP-markeri olemasolu võimaldab täiustatud pildistamistehnikaid, nagu konfokaalmikroskoopia ja elusraku pildistamine, mis annab üksikasjaliku ülevaate rakukomponentide ruumilisest ja ajalisest dünaamikast. Vaatamata varieerumisele jääb rakuliin võimsaks vahendiks keeruliste molekulaarsete lahtimõtestamiseks ja raku funktsioonide sügavamal tasandil mõistmiseks.

**Organism** Rott

**Tissue** Neerud

**Synonyms** NRK 4xλN22-3xmEGFP-M9

## Omadused

**Breed/Subspecies** OsborneMendel

**Morphology** Fibroblastitaolised fusiformse kujuga rakud

**Growth properties** Monokihiline, kleepuv

## Regulatiivsed andmed

**Citation** NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 (Cytioni katalooginumbriga 500672)

**Biosafety level** 1

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

**NCBI\_TaxID** 10116

**CellosaurusAccession** CVCL\_AV97

**Depositor** Ellenbergi labor (EMBL)

## Biomolekulaarsed andmed

**Receptors expressed** Epidermise kasvufaktor (EGF), paljunemist stimuleeriv toime (MSA)

**Protein expression** 4xλN22-3xmEGFP-M9: Asukoht/geen: 937..1009, 1066..1138, 1194..1261, 1323..1390 / lambda-peptiid, 1462..2176, 2179..2890, 2896..3612 / mEGFP, 3612..3815 / M9-His, 5090..5884 / KanR/NeoR, 7195..584 / Pcmv

**Products** M9-His tag vahel BsrG1/HindIII, Neomütsiin, fosfotransferaas, CMV Promotor

## Töötlemine

**Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glükoosi, w: 4 mM L-glutamiini, w: 3,7 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM naatriumpüruvaati (Cytioni artikli number 820300a)

**Supplements** Täiendada söötme 10% FBS, 0,5 mg/ml G418-ga

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Visake vana söötme ära ja peske rakud PBSiga. Lisage värskelt valmistatud 0,025% trüpsiini/0,02% EDTA lahust, mida on kuumutatud 37 kraadini, ja oodake, kuni rakud eralduvad, mis tavaliselt võtab umbes 5 minutit. Neutraliseerige trüpsiin, lisades värsket keskkonda, seejärel viige rakusegu katseklaasi ja tseentrifuugige. Pärast tseentrifuugimist eemaldage supernatant, resuspenseerige rakupellet värskes söötmes ja viige suspensioon uutesse kolvidesse. Lisage G418 kultuurikeskkonda, et saavutada lõppkontsentratsioon 0,5 mg/ml

**Split ratio** Soovitav on suhe 1:3 kuni 1:4

**Seeding density** 2 kuni  $4 \times 10^4$  rakku/cm<sup>2</sup>

**Fluid renewal** 2 kuni 3 korda nädalas

**Freeze medium** Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

**NRK-4 $\lambda$ N22-3xEGFP-M9 rakud | 500672****Thawing and  
Culturing Cells**

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle 37 °C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige rakuksuspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation  
Atmosphere**

37°C, 5% CO<sub>2</sub>, niisutatud atmosfäär.

**Flask Coating**

Puudub

**Freezing  
Procedure**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Shipping  
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

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

### Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

## Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

### Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.

### STR-profiil

**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