

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

## Yleisiä tietoja

## Description

NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9-solulinja on klonaalinen vakaa solulinja, joka on johdettu normaaleista rotan munuaissoluista (NRK-soluista) transfektoimalla ympyränmuotoinen plasmidi. Tämä plasmidi sisältää geneettisiä konstruktioita, jotka koodaavat neljää lambda N22 RNA:n sitoutumiskohtien tandemtoistoa ja kolme mEGFP (monomeerinen tehostettu vihreä fluoresoiva proteiini) -tunnisteiden tandemtoistoa, jotka on fuusioitu M9:n ydinalueen lokalisointisignaaliin. Transfektion jälkeen soluille tehtiin lääkeresistenssivalinta geneettisten muutosten vakauden varmistamiseksi.

Noin 50 prosenttia tämän vakaan kloonilinjain soluista ilmentää fluoresoivaa merkkiainetta 4xλN22-3xmEGFP-M9, mikä osoittaa plasmidin onnistunutta sisällyttämistä. Tämän merkkiaineen ilmentyminen mahdollistaa solunsisäisten prosessien reaaliaikaisen visualisoinnin, jota helpottaa mEGFP:n voimakas fluoresoiva signaali. M9:n ydinalueen lokalisointisignaali varmistaa, että ekspressoituvat fuusioproteiinit kulkeutuvat tumaan, minkä vuoksi tämä solulinja on erityisen hyödyllinen ydin-syttoplasmakuljetuksen, RNA-dynamiikan ja geeniekspression säätelyn tutkimiseen.

Tämä NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9-solulinja on arvokas tutkijoille, jotka keskittyvät RNA:ta sitovien proteiinien vuorovaikutuksiin, RNA:n metaboliaan ja ydintuonnin ja -viennin taustalla oleviin mekanismeihin. MEGFP-markkerin läsnäolo mahdollistaa kehittyneet kuvantamistekniikat, kuten konfokaalimikroskopian ja elävän solun kuvantamisen, ja antaa yksityiskohtaisen kuvan solun komponenttien alueellisesta ja ajallisesta dynamiikasta. Vaihtelusta huolimatta solulinja on edelleen tehokas väline monimutkaisten molekyylireitien tutkimiseen ja solujen toimintojen ymmärtämiseen syvemmällä tasolla.

**Organism** Rotta

**Tissue** Munuaiset

**Synonyms** NRK 4xλN22-3xmEGFP-M9

## Ominaisuudet

**Breed/Subspecies** OsborneMendel

**Morphology** Fibroblastin kaltaiset solut, joilla on fusiforminen muoto

**Growth properties** Yksikerroksinen, tarttuva

## Säätelytiedot

**Citation** NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 (Cytionin luettelonumero 500672)

**Biosafety level** 1

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

**NCBI\_TaxID** 10116**CellosaurusAccession** CVCL\_AV97**Depositor** Ellenbergin laboratorio (EMBL)**Biomolekyylitiedot****Receptors expressed** Epiderminen kasvutekijä (EGF), lisääntymistä stimuloiva aktiivisuus (MSA)**Protein expression** 4xλN22-3xmEGFP-M9: Sijainti/geeni: 937..1009, 1066..1138, 1194..1261, 1323..1390 / lambda-peptidi, 1462..2176, 2179..2890, 2896..3612 / mEGFP, 3612..3815 / M9-His, 5090..5884 / KanR/NeoR, 7195..584 / Pcmv**Products** M9-His-tag BsrG1/HindIII:n välissä, Neomysiini, fosfotransferaasi, CMV Promotor**Käsittely****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukoosia, w: 4 mM L-glutamiinia, w: 3,7 g/l NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM natriumpyruvaattia (Cytionin artikkelinumero 820300a)**Supplements** Täydennetään elatusainetta 10 % FBS:llä, 0,5 mg/ml G418:lla**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Hävitä vanha väliaine ja pese solut PBS:llä. Lisätään tuore 0,025-prosenttinen trypsiini/0,02-prosenttinen EDTA-liuos, joka on lämmitetty 37 celsiusasteeseen, ja odotetaan, kunnes solut irtoavat, mikä kestää yleensä noin 5 minuuttia. Neutraloi trypsiini lisäämällä tuoretta elatusainetta, siirrä soluseos putkeen ja sentrifugoi. Sentrifugoinnin jälkeen poista supernatantti, suspendoi solupelletti uudelleen tuoreessa kasvatusmediassa ja siirrä suspensio uusiin pulloihin. Lisää G418:a elatusaineeseen, jotta saavutetaan 0,5 mg/ml:n lopullinen pitoisuus**Split ratio** Suositeltava suhde on 1:3–1:4**Seeding density** 2–4 x 10<sup>4</sup> solua/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal** 2-3 kertaa viikossa

**NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9-solut | 500672****Freeze medium**

Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

**Incubation Atmosphere**

37 °C, 5 % CO<sub>2</sub>, kostutettu ilmakehä.

**Flask Coating**

Ei mitään

**Freezing Procedure**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

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

### Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

### Storage Conditions

Pitkäaikaisäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

## Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

### Sterility

Mykoplasmaakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.

### STR-profiili

**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