

Cellules NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 | 500672**Informations générales****Description**

La lignée cellulaire NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 est une lignée cellulaire clonale stable dérivée de cellules de rein de rat normal (NRK) par transfection d'un plasmide circulaire. Ce plasmide contient des constructions génétiques codant pour quatre répétitions en tandem de sites de liaison à l'ARN lambda N22 et trois répétitions en tandem d'étiquettes mEGFP (protéine fluorescente verte améliorée monomérique) fusionnées avec le signal de localisation nucléaire M9. Après transfection, les cellules ont été soumises à une sélection de résistance aux médicaments afin de garantir la stabilité des modifications génétiques.

Environ 50 % des cellules de cette lignée clonale stable expriment le marqueur fluorescent 4xλN22-3xmEGFP-M9, ce qui indique une incorporation réussie du plasmide. L'expression de ce marqueur permet la visualisation en temps réel des processus intracellulaires, facilitée par le signal fluorescent robuste de la mEGFP. Le signal de localisation nucléaire M9 garantit que les protéines de fusion exprimées sont transportées vers le noyau, ce qui rend cette lignée cellulaire particulièrement utile pour l'étude du transport nucléaire-cytoplasmique, de la dynamique de l'ARN et de la régulation de l'expression génétique.

Cette lignée cellulaire NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 est précieuse pour les chercheurs qui s'intéressent aux interactions entre les protéines de liaison à l'ARN, au métabolisme de l'ARN et aux mécanismes qui sous-tendent l'importation et l'exportation nucléaires. La présence du marqueur mEGFP permet d'utiliser des techniques d'imagerie avancées telles que la microscopie confocale et l'imagerie de cellules vivantes, ce qui donne un aperçu détaillé de la dynamique spatiale et temporelle des composants cellulaires. Malgré la bigarrure, la lignée cellulaire reste un outil puissant pour disséquer des voies moléculaires complexes et comprendre les fonctions cellulaires à un niveau plus profond.

Organism Rat**Tissue** Rein**Synonyms** NRK 4xλN22-3xmEGFP-M9**Caractéristiques****Breed/Subspecies** OsborneMendel**Morphology** Cellules de forme fusiforme ressemblant à des fibroblastes**Growth properties** Monocouche, adhérente**Données réglementaires****Citation** NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 (numéro de catalogue Cytion 500672)

Cellules NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 | 500672

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

Données biomoléculaires

Receptors expressed	Facteur de croissance épidermique (EGF), activité stimulant la multiplication (MSA)
Protein expression	4xλN22-3xmEGFP-M9 : Localisation/Gène : 937..1009, 1066..1138, 1194..1261, 1323..1390 / lambda peptide, 1462..2176, 2179..2890, 2896..3612 / mEGFP, 3612..3815 / M9-His, 5090..5884 / KanR/NeoR, 7195..584 / Pcmv
Products	Étiquette M9-His entre BsrG1/HindIII, Néomycine, Phosphotransférase, Promoteur CMV

Manipulation

Culture Medium	DMEM, w : 4.5 g/L Glucose, w : 4 mM L-Glutamine, w : 3.7 g/L NaHCO ₃ , w : 1.0 mM Pyruvate de sodium (numéro d'article Cytion 820300a)
Supplements	Compléter le milieu avec 10 % de FBS, 0,5 mg/mL de G418
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Jeter l'ancien milieu et laver les cellules avec du PBS. Ajouter une solution fraîchement préparée de 0,025 % de trypsine/0,02 % d'EDTA chauffée à 37 degrés Celsius et attendre que les cellules se détachent, ce qui prend généralement environ 5 minutes. Neutraliser la trypsine en ajoutant du milieu frais, puis transférer le mélange de cellules dans un tube et centrifuger. Après centrifugation, éliminer le surnageant, remettre le culot cellulaire en suspension dans du milieu de culture frais et transférer la suspension dans de nouveaux flacons. Incorporer G418 dans le milieu de culture pour obtenir une concentration finale de 0,5 mg/ml
Split ratio	Un rapport de 1:3 à 1:4 est recommandé
Seeding density	2 à 4 x 10 ⁴ cellules/cm ²
Fluid renewal	2 à 3 fois par semaine

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

Freeze medium

Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (comprenant du FBS) + 10 % de DMSO pour une viabilité adéquate après décongélation, ou CM-1 (numéro de catalogue 800100 de Cytion), qui comprend des osmoprotectants et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryogénéisation.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.
4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules et jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre doucement en suspension le culot cellulaire dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension entre deux flacons de culture T25 ; pour les cultures en suspension, transférer tout le milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance efficaces des cellules.
8. Respecter les protocoles de sous-culture établis pour une croissance et un entretien continus de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosphère humidifiée.

Flask Coating

Aucun

Cellules NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 | 500672

Freezing Procedure

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle de qualité / Profil génétique / HLA

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes basées sur la luminescence.

Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.

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