

**Sel NRK-4 $\lambda$ N22-3xmEGFP-M9 | 500672****Informasi umum****Description**

Garis sel NRK-4 $\lambda$ N22-3xmEGFP-M9 adalah garis sel stabil klonal yang berasal dari sel ginjal tikus normal (NRK) melalui transfeksi plasmid melingkar. Plasmid ini mengandung konstruksi genetik yang mengkodekan empat pengulangan tandem situs pengikatan RNA lambda N22 dan tiga pengulangan tandem tag mEGFP (protein fluoresen hijau yang disempurnakan secara monomerik) yang menyatu dengan sinyal lokalisasi nuklir M9. Pasca-transfeksi, sel menjalani seleksi resistensi obat untuk memastikan stabilitas modifikasi genetik.

Sekitar 50% sel dalam garis stabil klonal ini mengekspresikan penanda fluoresen 4 $\lambda$ N22-3xmEGFP-M9, yang mengindikasikan keberhasilan penggabungan plasmid. Ekspresi penanda ini memungkinkan visualisasi proses intraseluler secara real-time, yang difasilitasi oleh sinyal fluoresen yang kuat dari mEGFP. Sinyal lokalisasi nuklir M9 memastikan bahwa protein fusi yang diekspresikan diangkut ke nukleus, membuat garis sel ini sangat berguna untuk mempelajari transpor nuklir-sitoplasma, dinamika RNA, dan regulasi ekspresi gen.

Garis sel NRK-4 $\lambda$ N22-3xmEGFP-M9 ini sangat berharga bagi para peneliti yang berfokus pada interaksi protein pengikat RNA, metabolisme RNA, dan mekanisme yang mendasari impor dan ekspor nuklir. Kehadiran penanda mEGFP memungkinkan teknik pencitraan canggih seperti mikroskop confocal dan pencitraan sel hidup, memberikan wawasan terperinci tentang dinamika spasial dan temporal komponen seluler. Terlepas dari keragamannya, garis sel tetap menjadi alat yang ampuh untuk membedah jalur molekuler yang kompleks dan memahami fungsi seluler pada tingkat yang lebih dalam.

**Organism** Tikus**Tissue** Ginjal**Synonyms** NRK 4 $\lambda$ N22-3xmEGFP-M9**Karakteristik****Breed/Subspecies** OsborneMendel**Morphology** Sel mirip fibroblas dengan bentuk fusiform**Growth properties** Monolayer, patuh**Data Peraturan****Citation** NRK-4 $\lambda$ N22-3xmEGFP-M9 (nomor katalog Cytion 500672)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 10116

Sel NRK-4 $\lambda$ N22-3xmEGFP-M9 | 500672

**CellosaurusAccession** CVCL\_AV97

**Depositor** Laboratorium Ellenberg (Ellenberg Lab) (EMBL)

## Data Biomolekuler

**Receptors expressed** Faktor pertumbuhan epidermal (EGF), aktivitas stimulasi multiplikasi (MSA)

**Protein expression** 4 $\lambda$ N22-3xmEGFP-M9: Lokasi / Gen: 937..1009, 1066..1138, 1194..1261, 1323..1390 / peptida lambda, 1462..2176, 2179..2890, 2896..3612 / mEGFP, 3612..3815 / M9-His, 5090..5884 / KanR / NeoR, 7195..584 / Pcmv

**Products** M9-Tag antara BSRG1/HindIII, Neomisin, Fosfotransferase, Promotor CMV

## Penanganan

**Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L Glukosa, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM Natrium piruvat (Nomor artikel Cytion 820300a)

**Supplements** Tambahkan media dengan 10% FBS, 0,5 mg/mL G418

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Buang media lama dan cuci sel dengan PBS. Tambahkan larutan tripsin 0,025% / 0,02% EDTA yang baru disiapkan yang dipanaskan hingga 37 derajat Celcius dan tunggu hingga sel terlepas, yang biasanya membutuhkan waktu sekitar 5 menit. Netralkan tripsin dengan menambahkan medium segar, lalu pindahkan campuran sel ke dalam tabung dan sentrifugasi. Setelah sentrifugasi, keluarkan supernatan, resuspensi pelet sel dalam media kultur segar, dan pindahkan suspensi ke labu baru. Masukkan G418 ke dalam media kultur untuk mencapai konsentrasi akhir 0,5 mg / ml

**Split ratio** Disarankan untuk menggunakan perbandingan 1:3 hingga 1:4

**Seeding density** 2 hingga 4 x 10<sup>4</sup> sel/cm<sup>2</sup>

**Fluid renewal** 2 hingga 3 kali per minggu

**Freeze medium** Sebagai media kriopreservasi, kami menggunakan media pertumbuhan lengkap (termasuk FBS) + 10% DMSO untuk viabilitas pasca-pencairan yang memadai, atau CM-1 (nomor katalog Cytion 800100), yang mencakup osmoprotektan yang dioptimalkan dan penstabil metabolisme untuk meningkatkan pemulihan dan mengurangi stres yang diinduksi kriopreservasi.

**Sel NRK-4 $\lambda$ N22-3 $\mu$ mEGFP-M9 | 500672**

**Thawing and Culturing Cells**

1. Pastikan botol tetap dalam keadaan beku pada saat pengiriman, karena sel dikirim dengan es kering untuk mempertahankan suhu optimal selama perjalanan.
2. Setelah diterima, segera simpan cryovial pada suhu di bawah -150°C untuk memastikan pelestarian integritas sel, atau lanjutkan ke langkah 3 jika kultur segera diperlukan.
3. Untuk kultur segera, segera cairkan botol dengan merendamnya dalam penangas air bersuhu 37°C dengan air bersih dan agen antimikroba, aduk perlahan selama 40-60 detik hingga gumpalan es kecil tetap ada.
4. Lakukan semua langkah selanjutnya dalam kondisi steril di dalam tudung alir, desinfektan kriovial dengan etanol 70% sebelum dibuka.
5. Buka botol yang telah didesinfeksi dengan hati-hati dan pindahkan suspensi sel ke dalam tabung sentrifugasi 15 ml yang berisi 8 ml media kultur suhu kamar, aduk perlahan.
6. Sentrifus campuran pada 300 x g selama 3 menit untuk memisahkan sel dan dengan hati-hati membuang supernatan yang mengandung sisa media pembekuan.
7. Resuspensi pelet sel dengan hati-hati dalam 10 ml medium kultur segar. Untuk sel yang melekat, bagi suspensi di antara dua labu kultur T25; untuk kultur suspensi, pindahkan semua media ke dalam satu labu T25 untuk mendorong interaksi dan pertumbuhan sel yang efektif.
8. Patuhi protokol subkultur yang telah ditetapkan untuk pertumbuhan dan pemeliharaan garis sel yang berkelanjutan, memastikan hasil eksperimental yang andal.

**Incubation Atmosphere**

37°C, 5%  $\text{CO}_2$ , atmosfer yang dilembabkan.

**Flask Coating**

Tidak ada

**Freezing Procedure**

Lini sel kriopreservasi dikirim di atas es kering dalam kemasan terisolasi yang divalidasi dengan refrigeran yang cukup untuk mempertahankan suhu sekitar -78 ° C selama perjalanan. Setelah diterima, segera periksa wadah dan pindahkan botol tanpa penundaan ke tempat penyimpanan yang sesuai.

**Shipping Conditions**

Lini sel kriopreservasi dikirim di atas es kering dalam kemasan terisolasi yang divalidasi dengan refrigeran yang cukup untuk mempertahankan suhu sekitar -78 ° C selama perjalanan. Setelah diterima, segera periksa wadah dan pindahkan botol tanpa penundaan ke tempat penyimpanan yang sesuai.

## Sel NRK-4 $\lambda$ N22-3xEGFP-M9 | 500672

### Storage Conditions

Untuk pengawetan jangka panjang, tempatkan botol dalam nitrogen cair fase uap pada suhu sekitar -150 hingga -196 °C. Penyimpanan pada suhu -80 °C hanya dapat diterima sebagai langkah sementara sebelum dipindahkan ke nitrogen cair.

## Kontrol kualitas / Profil genetik / HLA

### Sterility

Kontaminasi mikoplasma disingkirkan dengan menggunakan tes berbasis PCR dan metode deteksi mikoplasma berbasis pendaran.

Untuk memastikan tidak ada kontaminasi bakteri, jamur, atau ragi, kultur sel menjalani inspeksi visual setiap hari.

### 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