

Cellule NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 | 500672**Informazioni generali****Description**

La linea cellulare NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 è una linea cellulare clonale stabile derivata da cellule di rene normale di ratto (NRK) attraverso la trasfezione di un plasmide circolare. Questo plasmide contiene costrutti genetici che codificano quattro ripetizioni in tandem dei siti di legame dell'RNA di lambda N22 e tre ripetizioni in tandem di tag mEGFP (monomeric enhanced green fluorescent protein) fusi con il segnale di localizzazione nucleare M9. Dopo la trasfezione, le cellule sono state sottoposte a selezione della resistenza ai farmaci per garantire la stabilità delle modifiche genetiche.

Circa il 50% delle cellule di questa linea clonale stabile esprime il marcatore fluorescente 4xλN22-3xmEGFP-M9, indicando il successo dell'incorporazione del plasmide. L'espressione di questo marcatore consente la visualizzazione in tempo reale dei processi intracellulari, facilitata dal robusto segnale fluorescente di mEGFP. Il segnale di localizzazione nucleare M9 assicura che le proteine di fusione espresse siano trasportate nel nucleo, rendendo questa linea cellulare particolarmente utile per lo studio del trasporto nucleare-citoplasmatico, della dinamica dell'RNA e della regolazione dell'espressione genica.

Questa linea cellulare NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 è preziosa per i ricercatori che si concentrano sulle interazioni tra proteine che legano l'RNA, sul metabolismo dell'RNA e sui meccanismi alla base dell'importazione e dell'esportazione nucleare. La presenza del marcatore mEGFP consente di utilizzare tecniche di imaging avanzate come la microscopia confocale e l'imaging di cellule vive, fornendo informazioni dettagliate sulle dinamiche spaziali e temporali dei componenti cellulari. Nonostante la variegatura, la linea cellulare rimane un potente strumento per la dissezione di complessi percorsi molecolari e la comprensione delle funzioni cellulari a un livello più profondo.

Organism Ratto**Tissue** Rene**Synonyms** NRK 4xλN22-3xmEGFP-M9**Caratteristiche****Breed/Subspecies** OsborneMendel**Morphology** Cellule simili a fibroblasti con forma fusiforme**Growth properties** Monostrato, aderente**Dati normativi****Citation** NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 (numero di catalogo Cytion 500672)

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

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 10116**CellosaurusAccession** CVCL_AV97**Depositor** Il laboratorio Ellenberg (EMBL)**Dati biomolecolari****Receptors expressed** Fattore di crescita epidermico (EGF), attività stimolante la moltiplicazione (MSA)**Protein expression** 4xλN22-3xmEGFP-M9: localizzazione/gene: 937..1009, 1066..1138, 1194..1261, 1323..1390 / peptide lambda, 1462..2176, 2179..2890, 2896..3612 / mEGFP, 3612..3815 / M9-His, 5090..5884 / KanR/NeoR, 7195..584 / Pcmv**Products** Tag M9-His tra BsrG1/HindIII, Neomicina, Fosfotransferasi, Promotore CMV**Manipolazione****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L di glucosio, w: 4 mM di L-Glutamina, w: 3,7 g/L di NaHCO₃, w: 1,0 mM di piruvato di sodio (articolo Cytion numero 820300a)**Supplements** Integrare il terreno di coltura con 10% FBS, 0,5 mg/mL G418**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Eliminare il vecchio terreno e lavare le cellule con PBS. Aggiungere una soluzione di tripsina 0,025%/0,02% EDTA appena preparata e riscaldata a 37 gradi Celsius e attendere che le cellule si stacchino, il che di solito richiede circa 5 minuti. Neutralizzare la tripsina aggiungendo terreno fresco, quindi trasferire la miscela di cellule in una provetta e centrifugare. Dopo la centrifugazione, rimuovere il surnatante, risospingere il pellet di cellule in terreno di coltura fresco e trasferire la sospensione in nuove fiasche. Incorporare G418 nel terreno di coltura per ottenere una concentrazione finale di 0,5 mg/ml**Split ratio** Si raccomanda un rapporto da 1:3 a 1:4**Seeding density** Da 2 a 4 x 10⁴ cellule/cm²**Fluid renewal** da 2 a 3 volte alla settimana

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

Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelo, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%_{CO2}, atmosfera umidificata.

Flask Coating

Nessuno

Freezing Procedure

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

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

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo di qualità / Profilo genetico / HLA

Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.

Profilo 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