

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

## Algemene informatie

## Description

De NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 cellijn is een klonale stabiele cellijn afgeleid van normale rattenniercellen (NRK) door transfectie van een circulair plasmide. Dit plasmide bevat genetische constructen die coderen voor vier tandemherhalingen van lambda N22 RNA-bindingsplaatsen en drie tandemherhalingen van mEGFP-tags (monomeer versterkt groen fluorescerend eiwit), gefuseerd met het M9 nucleair lokalisatiesignaal. Na de transfectie werden de cellen geselecteerd op resistentie tegen geneesmiddelen om de stabiliteit van de genetische modificaties te garanderen.

Ongeveer 50% van de cellen in deze stabiele klonale lijn brengen de fluorescente marker 4xλN22-3xmEGFP-M9 tot expressie, wat duidt op een succesvolle incorporatie van het plasmide. De expressie van deze marker maakt real-time visualisatie van intracellulaire processen mogelijk, vergemakkelijkt door het robuuste fluorescentiesignaal van mEGFP. Het M9 nucleaire lokalisatiesignaal zorgt ervoor dat de uitgedrukte fusie-eiwitten naar de kern worden getransporteerd, waardoor deze cellijn bijzonder nuttig is voor het bestuderen van nucleair-cytoplasmatisch transport, RNA-dynamica en genexpressieregulatie.

Deze NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 cellijn is waardevol voor onderzoekers die zich richten op RNA-bindende eiwitinteracties, RNA-metabolisme en de mechanismen die ten grondslag liggen aan nucleaire import en export. De aanwezigheid van de mEGFP-marker maakt geavanceerde beeldvormingstechnieken zoals confocale microscopie en live-cell imaging mogelijk, wat gedetailleerde inzichten geeft in de ruimtelijke en temporele dynamiek van cellulaire componenten. Ondanks de variatie blijft de cellijn een krachtig hulpmiddel om complexe moleculaire routes te ontleden en cellulaire functies op een dieper niveau te begrijpen.

**Organism** Rat

**Tissue** Nieren

**Synonyms** NRK 4xλN22-3xmEGFP-M9

## Kenmerken

**Breed/Subspecies** OsborneMendel

**Morphology** Fibroblast-achtige cellen met spoelvormige vorm

**Growth properties** Monolaag, adherent

## Regelgevende gegevens

**Citation** NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 (Cytion catalogusnummer 500672)

**Biosafety level** 1

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

**NCBI\_TaxID** 10116**CellosaurusAccession** CVCL\_AV97**Depositor** Het Ellenberg Lab (EMBL)**Biomoleculaire gegevens****Receptors expressed** Epidermale groeifactor (EGF), vermeerderingsstimulerende activiteit (MSA)**Protein expression** 4xλN22-3xmEGFP-M9: Locatie/gen: 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** M9-His tag tussen BsrG1/HindIII, neomycine, fosfotransferase, CMV Promotor**Omgaan met****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L Glucose, w: 4 mM L-Glutamine, w: 3,7 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM Natriumpyruvaat (Cytion artikelnummer 820300a)**Supplements** Vul het medium aan met 10% FBS, 0,5 mg/mL G418**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Gooi het oude medium weg en was de cellen met PBS. Voeg een vers bereide 0,025% trypsine/0,02% EDTA-oplossing verwarmd tot 37 graden Celsius toe en wacht tot de cellen loskomen, wat meestal ongeveer 5 minuten duurt. Neutraliseer de trypsine door vers medium toe te voegen, breng het celmengsel over naar een buis en centrifugeer. Verwijder na het centrifugeren het supernatant, resuspendeer de celpellet in vers kweekmedium en breng de suspensie over naar nieuwe kolven. Voeg G418 toe aan het kweekmedium om een eindconcentratie van 0,5 mg/ml te bereiken**Split ratio** Een verhouding van 1:3 tot 1:4 wordt aanbevolen**Seeding density** 2 tot 4 x 10<sup>4</sup> cellen/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal** 2 tot 3 keer per week

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

### Freeze medium

Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimeidium (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

### Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij  $300 \times g$  om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , bevochtigde atmosfeer.

### Flask Coating

Geen

### Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

## NRK-4 $\lambda$ N22-3x $\mu$ EGFP-M9-cellen | 500672

### Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

### Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

## Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

### Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.

### STR profiel

**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