

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

## Generell informasjon

## Description

NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9-cellelinjen er en klonal, stabil cellelinje som er avledet fra normale rotnyreceller (NRK) ved transfeksjon av et sirkulært plasmid. Dette plasmidet inneholder genetiske konstruksjoner som koder for fire tandemgjentakelser av lambda N22 RNA-bindingssteder og tre tandemgjentakelser av mEGFP (monomert forsterket grønt fluorescerende protein) som er fusjonert med M9 nukleærlokaliseringssignalet. Etter transfeksjonen ble cellene selektert for medikamentresistens for å sikre at de genetiske modifikasjonene var stabile.

Omtrent 50 % av cellene i denne stabile klonlinjen uttrykker den fluorescerende markøren 4xλN22-3xmEGFP-M9, noe som indikerer en vellykket inkorporering av plasmidet. Uttrykket av denne markøren gjør det mulig å visualisere intracellulære prosesser i sanntid, takket være det robuste fluorescerende signalet fra mEGFP. M9-signalet for nukleær lokalisering sikrer at de uttrykte fusjonsproteinene transporteres til kjernen, noe som gjør denne cellelinjen spesielt nyttig for studier av nukleær-cytoplasmatisk transport, RNA-dynamikk og regulering av genuttrykk.

Denne NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9-cellelinjen er verdifull for forskere som fokuserer på RNA-bindende proteininteraksjoner, RNA-metabolisme og mekanismene som ligger til grunn for kjerneimport og -eksport. Tilstedeværelsen av mEGFP-markøren muliggjør avanserte avbildningsteknikker som konfokalmikroskopi og avbildning av levende celler, noe som gir detaljert innsikt i den romlige og tidsmessige dynamikken til cellulære komponenter. Til tross for variasjonen er cellelinjen fortsatt et kraftig verktøy for å dissekere komplekse molekylære veier og forstå cellulære funksjoner på et dypere nivå.

**Organism** Rotte

**Tissue** Nyre

**Synonyms** NRK 4xλN22-3xmEGFP-M9

## Kjennetegn

**Breed/Subspecies** OsborneMendel

**Morphology** Fibroblastlignende celler med fusiform form

**Growth properties** Monolag, vedheftende

## Regulatoriske data

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

**Biosafety level** 1

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

**NCBI\_TaxID** 10116**CellosaurusAccession** CVCL\_AV97**Depositor** Ellenberg-laboratoriet (EMBL)**Biomolekylære data****Receptors expressed** Epidermal vekstfaktor (EGF), multiplikasjonsstimulerende aktivitet (MSA)**Protein expression** 4xλN22-3xmEGFP-M9: Beliggenhet/Gen: 937..1009, 1066..1138, 1194..1261, 1323..1390 / lambda-peptid, 1462..2176, 2179..2890, 2896..3612 / mEGFP, 3612..3815 / M9-His, 5090..5884 / KanR/NeoR, 7195..584 / Pcmv**Products** M9-His-tag mellom BsrG1/HindIII, neomycin, fosfotransferase, CMV-promotor**Håndtering****Culture Medium** DMEM, m: 4,5 g/L glukose, m: 4 mM L-glutamin, m: 3,7 g/L NaHCO<sub>3</sub>, m: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikkelnummer 820300a)**Supplements** Suppler mediet med 10 % FBS, 0,5 mg/mL G418**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Kast det gamle mediet, og vask cellene med PBS. Tilsett en nytilberedt 0,025 % trypsin/0,02 % EDTA-løsning oppvarmet til 37 grader Celsius, og vent til cellene løsner, noe som vanligvis tar ca. 5 minutter. Nøytraliser trypsinet ved å tilsette nytt medium, og overfør deretter celleblandingen til et rør og sentrifuger. Etter sentrifugering fjerner du supernatanten, resuspenderer cellepelleten i nytt dyrkningsmedium og overfører suspensjonen til nye kolber. Tilsett G418 i dyrkningsmediet for å oppnå en sluttkonsentrasjon på 0,5 mg/ml**Split ratio** Et forhold på 1:3 til 1:4 anbefales**Seeding density** 2 til 4 x 10<sup>4</sup> celler/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal** 2 til 3 ganger per uke**Freeze medium** Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter optining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoundusert stress.

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

### Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved  $300 \times g$  i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , befuktet atmosfære.

### Flask Coating

Ingen

### Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca.  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

### Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca.  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

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

### Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

## Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

### Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.

### STR-profil

**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