

Células NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 | 500672**Informações gerais****Description**

A linha celular NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 é uma linha celular clonal estável derivada de células normais de rim de rato (NRK) através da transfecção de um plasmídeo circular. Este plasmídeo contém construções genéticas que codificam quatro repetições em tandem de sítios de ligação ao ARN de lambda N22 e três repetições em tandem de etiquetas mEGFP (proteína fluorescente verde melhorada monomérica) fundidas com o sinal de localização nuclear M9. Após a transfecção, as células foram submetidas a uma seleção de resistência aos medicamentos para garantir a estabilidade das modificações genéticas.

Aproximadamente 50% das células desta linha clonal estável expressam o marcador fluorescente 4xλN22-3xmEGFP-M9, indicando uma incorporação bem sucedida do plasmídeo. A expressão deste marcador permite a visualização em tempo real dos processos intracelulares, facilitada pelo sinal fluorescente robusto do mEGFP. O sinal de localização nuclear M9 garante que as proteínas de fusão expressas são transportadas para o núcleo, tornando esta linha celular particularmente útil para o estudo do transporte nuclear-citoplasmático, da dinâmica do ARN e da regulação da expressão gênica.

Esta linha celular NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 é valiosa para os investigadores que se dedicam às interações entre proteínas de ligação ao ARN, ao metabolismo do ARN e aos mecanismos subjacentes à importação e exportação nucleares. A presença do marcador mEGFP permite a utilização de técnicas de imagiologia avançadas, como a microscopia confocal e a imagiologia de células vivas, proporcionando uma visão detalhada da dinâmica espacial e temporal dos componentes celulares. Apesar da variação, a linha celular continua a ser uma ferramenta poderosa para dissecar vias moleculares complexas e compreender as funções celulares a um nível mais profundo.

Organism Rato**Tissue** Rim**Synonyms** NRK 4xλN22-3xmEGFP-M9**Caraterísticas****Breed/Subspecies** OsborneMendel**Morphology** Células semelhantes a fibroblastos com forma fusiforme**Growth properties** Monocamada, aderente**Dados regulamentares****Citation** NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 (número de catálogo 500672 da Cytion)

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

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10116
CellosaurusAccession	CVCL_AV97
Depositor	O Laboratório Ellenberg (EMBL)

Dados biomoleculares

Receptors expressed	Fator de crescimento epidérmico (EGF), atividade estimuladora da multiplicação (MSA)
Protein expression	4xλN22-3xmEGFP-M9: Localização/Gene: 937..1009, 1066..1138, 1194..1261, 1323..1390 / péptido lambda, 1462..2176, 2179..2890, 2896..3612 / mEGFP, 3612..3815 / M9-His, 5090..5884 / KanR/NeoR, 7195..584 / Pcmv
Products	M9-His tag entre BsrG1/HindIII, Neomicina, Fosfotransferase, Promotor CMV

Manuseamento

Culture Medium	DMEM, com: 4,5 g/L de glucose, com: 4 mM de L-Glutamina, com: 3,7 g/L de NaHCO ₃ , com: 1,0 mM de piruvato de sódio (número de artigo Cytion 820300a)
Supplements	Suplementar o meio com 10% de FBS, 0,5 mg/mL de G418

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

Subculturing Deitar fora o meio antigo e lavar as células com PBS. Adicionar uma solução recém-preparada de tripsina a 0,025%/0,02% de EDTA aquecida a 37 graus Celsius e aguardar até que as células se desprendam, o que normalmente demora cerca de 5 minutos. Neutralizar a tripsina adicionando meio fresco e, em seguida, transferir a mistura de células para um tubo e centrifugar. Após a centrifugação, remover o sobrenadante, ressuspender o pellet de células em meio de cultura fresco e transferir a suspensão para novos frascos. Incorporar G418 no meio de cultura para obter uma concentração final de 0,5 mg/ml

Split ratio	Recomenda-se uma proporção de 1:3 a 1:4
--------------------	---

Seeding density	2 a 4 x 10 ⁴ células/cm ²
------------------------	---

Fluid renewal	2 a 3 vezes por semana
----------------------	------------------------

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

Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfetando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfetado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a 300 x g durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

**Incubation
Atmosphere**

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

Flask Coating

Nenhum

Células NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 | 500672**Freezing
Procedure**

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

**Shipping
Conditions**

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

**Storage
Conditions**

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de Qualidade e Análise Molecular**Sterility**

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspeções visuais diárias.

Perfil 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