

Cellule NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 | 500672**Informații generale****Description**

Linia celulară NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 este o linie celulară clonală stabilă derivată din celule normale de rinichi de șobolan (NRK) prin transfecția unei plasmide circulare. Această plasmidă conține construcții genetice care codifică patru repetări în tandem ale situsurilor de legare a ARN lambda N22 și trei repetări în tandem ale etichetelor mEGFP (proteină fluorescentă verde monomerică îmbunătățită) fuzionate cu semnalul de localizare nucleară M9. După transfectare, celulele au fost supuse selecției rezistenței la medicamente pentru a asigura stabilitatea modificărilor genetice.

Aproximativ 50% din celulele acestei linii stabile clonale exprimă markerul fluorescent 4xλN22-3xmEGFP-M9, indicând încorporarea cu succes a plasmidului. Expresia acestui marker permite vizualizarea în timp real a proceselor intracelulare, facilitată de semnalul fluorescent robust al mEGFP. Semnalul de localizare nucleară M9 asigură că proteinele de fuziune exprimate sunt transportate în nucleu, ceea ce face ca această linie celulară să fie deosebit de utilă pentru studiul transportului nucleocitoplasmatic, dinamica ARN și reglarea expresiei genelor.

Această linie celulară NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 este valoroasă pentru cercetătorii care se concentrează asupra interacțiunilor dintre proteinele care leagă ARN, metabolismul ARN și mecanismele care stau la baza importului și exportului nuclear. Prezența markerului mEGFP permite tehnici avansate de imagistică, cum ar fi microscopia confocală și imagistica celulelor vii, oferind o perspectivă detaliată asupra dinamicii spațiale și temporale a componentelor celulare. În ciuda varietății, linia celulară rămâne un instrument puternic pentru disecarea căilor moleculare complexe și înțelegerea funcțiilor celulare la un nivel mai profund.

Organism Șobolan**Tissue** Rinichi**Synonyms** NRK 4xλN22-3xmEGFP-M9**Caracteristici****Breed/Subspecies** OsborneMendel**Morphology** Celule asemănătoare fibroblastelor cu formă fusiformă**Growth properties** Monostrat, aderent**Date de reglementare****Citation** NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 (număr de catalog Cytion 500672)**Biosafety level** 1

Celule NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 | 500672**NCBI_TaxID** 10116**CellosaurusAccession** CVCL_AV97**Depositor** Laboratorul Ellenberg (EMBL)**Date biomoleculare****Receptors expressed** Factor de creștere epidermică (EGF), activitate de stimulare a multiplicării (MSA)**Protein expression** 4xλN22-3xmEGFP-M9: Localizare/Gene: 937..1009, 1066..1138, 1194..1261, 1323..1390 / peptidă lambda, 1462..2176, 2179..2890, 2896..3612 / mEGFP, 3612..3815 / M9-His, 5090..5884 / KanR/NeoR, 7195..584 / Pcmv**Products** Etichetă M9-His între BsrG1/HindIII, neomicină, fosfotransferază, promotor CMV**Manipulare****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glucoză, w: 4 mM L-glutamină, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM piruvat de sodiu (număr articol Cytion 820300a)**Supplements** Suplimentați mediul cu 10% FBS, 0,5 mg/mL G418**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Aruncați mediul vechi și spălați celulele cu PBS. Se adaugă o soluție proaspăt preparată de tripsină 0,025%/0,02% EDTA încălzită la 37 de grade Celsius și se așteaptă până când celulele se desprind, ceea ce durează de obicei aproximativ 5 minute. Neutralizați tripsina prin adăugarea de mediu proaspăt, apoi transferați amestecul de celule într-un tub și centrifugați. După centrifugare, îndepărtați supernatantul, resuspendați peletul celular în mediu de cultură proaspăt și transferați suspensia în flacoane noi. Încorporați G418 în mediul de cultură pentru a obține o concentrație finală de 0,5 mg/ml**Split ratio** Se recomandă un raport de 1:3 până la 1:4**Seeding density** 2 până la 4×10^4 cel^{ule}/cm²**Fluid renewal** de 2 până la 3 ori pe săptămână**Freeze medium** Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezghețare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanți optimizați și stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea și a reduce stresul indus de criogenie.

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

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual.
7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă.
8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosferă umidificată.

Flask Coating

Niciuna

Freezing Procedure

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Shipping Conditions

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

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

Storage Conditions

Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

Controlul calității / Profil genetic / HLA

Sterility

Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență.

Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.

Profilul 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