

Bunky NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 | 500672**Všeobecné informácie****Description**

Bunková línia NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 je klonálna stabilná bunková línia odvodená z buniek normálnych potkaních obličiek (NRK) transfekciou kruhového plazmidu. Tento plazmid obsahuje genetické konštrukty kódujúce štyri tandemové opakovania lambda N22 RNA-viažucich miest a tri tandemové opakovania mEGFP (monoméry zosilnený zelený fluorescenčný proteín) značiek spojených s jadrovým lokalizačným signálom M9. Po transfekcii sa bunky podrobili selekcii na odolnosť voči liekom, aby sa zabezpečila stabilita genetických modifikácií.

Približne 50 % buniek v tejto klonálnej stabilnej línii exprimuje fluorescenčný marker 4xλN22-3xmEGFP-M9, čo naznačuje úspešnú inkorporáciu plazmidu. Expresia tohto markera umožňuje vizualizáciu vnútrobunkových procesov v reálnom čase, ktorú uľahčuje robustný fluorescenčný signál mEGFP. Jadrový lokalizačný signál M9 zabezpečuje, že exprimované fúzne proteíny sú transportované do jadra, vďaka čomu je táto bunková línia mimoriadne užitočná na štúdium jadrovo-cytoplazmatického transportu, dynamiky RNA a regulácie génovej expresie.

Táto bunková línia NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 je cenná pre výskumníkov zameraných na interakcie proteínov viažucich RNA, metabolizmus RNA a mechanizmy, ktoré sú základom jadrového importu a exportu. Prítomnosť markera mEGFP umožňuje pokročilé zobrazovacie techniky, ako je konfokálna mikroskopia a zobrazovanie živých buniek, ktoré poskytujú podrobný pohľad na priestorovú a časovú dynamiku bunkových zložiek. Napriek pestrosti zostáva táto bunková línia výkonným nástrojom na pitvu zložitých molekulárnych dráh a pochopenie bunkových funkcií na hlbšej úrovni.

Organism Krysy**Tissue** Obličky**Synonyms** NRK 4xλN22-3xmEGFP-M9**Charakteristika****Breed/Subspecies** OsborneMendel**Morphology** Fibroblastom podobné bunky s fusiformným tvarom**Growth properties** Monovrstva, priliehajúca**Regulačné údaje****Citation** NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 (katalógové číslo Cytion 500672)**Biosafety level** 1

Bunky NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 | 500672**NCBI_TaxID** 10116**CellosaurusAccession** CVCL_AV97**Depositor** Ellenbergova laboratória (EMBL)**Biomolekulárne údaje****Receptors expressed** Epidermálny rastový faktor (EGF), aktivita stimulujúca množenie (MSA)**Protein expression** 4xλN22-3xmEGFP-M9: Umiestnenie/gén: 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 značka medzi BsrG1/HindIII, neomycín, fosfotransferáza, CMV promotor**Spracovanie****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutamínu, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)**Supplements** Doplňte médium o 10 % FBS, 0,5 mg/ml G418**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Staré médium zlikvidujte a bunky premyte PBS. Pridajte čerstvo pripravený 0,025 % roztok trypsínu/0,02 % EDTA zahriaty na 37 °C a počkajte, kým sa bunky neoddelia, čo zvyčajne trvá asi 5 minút. Neutralizujte trypsín pridaním čerstvého média, potom zmes buniek preneste do skúmavky a odstredte. Po odstredení odstráňte supernatant, resuspendujte bunkovú peletu v čerstvom kultivačnom médiu a suspenziou prelejte do nových fliaš. Do kultivačného média pridajte G418, aby ste dosiahli konečnú koncentráciu 0,5 mg/ml**Split ratio** Odporúča sa pomer 1:3 až 1:4**Seeding density** 2 až 4 x 10⁴ buniek/cm²**Fluid renewal** 2 až 3-krát týždenne**Freeze medium** Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

Bunky NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 | 500672**Thawing and
Culturing Cells**

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žiadne

**Freezing
Procedure**

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

**Shipping
Conditions**

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

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

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.

STR profile

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