

Celice NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 | 500672**Splošne informacije****Description**

Celična linija NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 je stabilna klonška celična linija, pridobljena iz normalnih celic podganje ledvice (NRK) s transfekcijo krožnega plazmida. Ta plazmid vsebuje genetske konstrukte, ki kodirajo štiri tandemske ponovitve lambda N22 RNA-vezavnih mest in tri tandemske ponovitve mEGFP (monomerni okrepljeni zeleni fluorescenčni protein), ki so združene s signalom za jedrsko lokalizacijo M9. Po transfekciji so bile celice selekcionirane na odpornost proti zdravilom, da se zagotovi stabilnost genskih sprememb.

Približno 50 % celic v tej stabilni klonški liniji izraža fluorescenčni označevalec 4xλN22-3xmEGFP-M9, kar kaže na uspešno vključitev plazmida. Izražanje tega označevalca omogoča vizualizacijo znotrajceličnih procesov v realnem času, kar omogoča močan fluorescenčni signal mEGFP. Signal jedrske lokalizacije M9 zagotavlja, da se izraženi fuzijski proteini prenašajo v jedro, zato je ta celična linija še posebej uporabna za preučevanje jedrsko-citoplazmatskega prenosa, dinamike RNK in regulacije izražanja genov.

Ta celična linija NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 je dragocena za raziskovalce, ki se osredotočajo na interakcije med beljakovinami, ki vežejo RNA, presnovo RNA ter mehanizme, na katerih temeljita uvoz in izvoz iz jedra. Prisotnost označevalca mEGFP omogoča napredne tehnike slikanja, kot sta konfokalna mikroskopija in slikanje živih celic, kar omogoča podroben vpogled v prostorsko in časovno dinamiko celičnih komponent. Kljub spremljivosti celična linija ostaja močno orodje za razčlenjevanje zapletenih molekularnih poti in razumevanje celičnih funkcij na globlji ravni.

Organism Podgana**Tissue** Ledvice**Synonyms** NRK 4xλN22-3xmEGFP-M9**Značilnosti****Breed/Subspecies** OsborneMendel**Morphology** Fibroblastom podobne celice s fusiformno obliko**Growth properties** Enoslojni, adherentni**Regulativni podatki****Citation** NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 (kataloška številka Cytion 500672)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10116

Celice NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 | 500672**CellosaurusAccession** CVCL_AV97**Depositor** Laboratorij Ellenberg (EMBL)**Biomolekularni podatki****Receptors expressed** Epidermalni rastni dejavnik (EGF), aktivnost, ki spodbuja razmnoževanje (MSA)**Protein expression** 4xλN22-3xmEGFP-M9: Lokacija/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 oznaka med BsrG1/HindIII, neomicin, fosfotransferaza, CMV promotor**Ravnanje s spletno stranjo****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glukoze, w: 4 mM L-glutamina, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM natrijevega piruvata (številka izdelka Cytion 820300a)**Supplements** Gojišču dodajte 10 % FBS, 0,5 mg/ml G418**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Zavržite staro gojišče in celice sperite s PBS. Dodajte sveže pripravljeno 0,025 % raztopino tripsina/0,02 % EDTA, segreto na 37 stopinj Celzija, in počakajte, da se celice ločijo, kar običajno traja približno 5 minut. Tripsin nevtralizirajte z dodajanjem svežega gojišča, nato celično mešanico prenesite v epruveto in centrifugirajte. Po centrifugiranju odstranite supernatant, ponovno suspendirajte celično peleton v svežem gojišču in suspenzijo prenesite v nove bučke. G418 dodajte v gojišče, da dosežete končno koncentracijo 0,5 mg/ml**Split ratio** Priporoča se razmerje od 1:3 do 1:4**Seeding density** 2 do 4 x 10⁴ celic/cm²**Fluid renewal** 2 do 3-krat na teden**Freeze medium** Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročene s kriom.

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

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu krioviala takoj shranite pri temperaturi pod $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $300 \times g$ 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Flask Coating

Nič

Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

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

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vial postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.

Profil 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