

Células NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 | 500672**Información general****Description**

La línea celular NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 es una línea celular clonal estable derivada de células renales normales de rata (NRK) mediante la transfección de un plásmido circular. Este plásmido contiene construcciones genéticas que codifican cuatro repeticiones en tándem de sitios de unión al ARN de lambda N22 y tres repeticiones en tándem de etiquetas mEGFP (proteína fluorescente verde mejorada monomérica) fusionadas con la señal de localización nuclear M9. Tras la transfección, las células se sometieron a una selección por resistencia a fármacos para garantizar la estabilidad de las modificaciones genéticas.

Aproximadamente el 50 % de las células de esta línea clonal estable expresan el marcador fluorescente 4xλN22-3xmEGFP-M9, lo que indica que el plásmido se ha incorporado con éxito. La expresión de este marcador permite la visualización en tiempo real de los procesos intracelulares, facilitada por la señal fluorescente robusta de la mEGFP. La señal de localización nuclear M9 garantiza que las proteínas de fusión expresadas sean transportadas al núcleo, lo que hace que esta línea celular sea particularmente útil para estudiar el transporte nuclear-citoplasmático, la dinámica del ARN y la regulación de la expresión génica.

Esta línea celular NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 es valiosa para los investigadores que se enfocan en las interacciones de las proteínas de unión al ARN, el metabolismo del ARN y los mecanismos subyacentes a la importación y exportación nuclear. La presencia del marcador mEGFP permite el uso de técnicas avanzadas de imagen, como la microscopía confocal y la obtención de imágenes de células vivas, lo que brinda información detallada sobre la dinámica espacial y temporal de los componentes celulares. A pesar de la variabilidad, la línea celular sigue siendo una herramienta poderosa para analizar vías moleculares complejas y comprender las funciones celulares a un nivel más profundo.

Organism Rata**Tissue** Riñón**Synonyms** NRK 4xλN22-3xmEGFP-M9**Características****Breed/Subspecies** OsborneMendel**Morphology** Células similares a los fibroblastos con forma fusiforme**Growth properties** Monocapa, adherente**Datos normativos****Citation** NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 (número de catálogo de Cytion 500672)

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

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10116
CellosaurusAccession	CVCL_AV97
Depositor	El Laboratorio Ellenberg (EMBL)

Datos biomoleculares

Receptors expressed	Factor de crecimiento epidérmico (EGF), actividad estimulante de la multiplicación (MSA)
Protein expression	4xλN22-3xmEGFP-M9: Ubicación/Gen: 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	Etiqueta M9-His entre BsrG1/HindIII, neomicina, fosfotransferasa, promotor del CMV

Manejo

Culture Medium	DMEM, p/v: 4,5 g/L de glucosa, p/v: 4 mM de L-glutamina, p/v: 3,7 g/L de NaHCO ₃ , p/v: 1,0 mM de piruvato de sodio (número de artículo de Cytion 820300a)
Supplements	Añade al medio un 10 % de FBS y 0,5 mg/mL de G418
Dissociation Reagent	Accutase

Subculturing Deshazte del medio usado y lava las células con PBS. Agrega una solución recién preparada de 0,025 % de tripsina y 0,02 % de EDTA calentada a 37 grados Celsius y espera hasta que las células se desprendan, lo que suele tardar unos 5 minutos. Neutraliza la tripsina agregando medio fresco, luego transfiere la mezcla celular a un tubo y centrifuga. Después de la centrifugación, retira el sobrenadante, resuspende el sedimento celular en medio de cultivo fresco y transfiere la suspensión a nuevos frascos. Incorpora G418 al medio de cultivo para alcanzar una concentración final de 0,5 mg/ml.

Seeding density	De 2 a 4×10^4 células/cm ²
Fluid renewal	De 2 a 3 veces por semana

Células NRK-4 λ N22-3xmEGFP-M9 | 500672

Freeze medium

Como medio de criopreservación, utilizamos un medio de crecimiento completo (que incluye FBS) + 10 % de DMSO para garantizar una viabilidad adecuada tras la descongelación, o CM-1 (número de catálogo de Cytion 800100), que incluye osmoprotectores y estabilizadores metabólicos optimizados para mejorar la recuperación y reducir el estrés inducido por la criopreservación.

Thawing and Culturing Cells

1. Verifique que el vial se mantenga profundamente congelado al momento de la entrega, ya que las células se envían en hielo seco para mantener temperaturas óptimas durante el transporte.
2. Al recibirlo, almacene el criovial inmediatamente a temperaturas inferiores a -150 °C para garantizar la preservación de la integridad celular, o bien continúe con el paso 3 si se requiere un cultivo inmediato.
3. Para el cultivo inmediato, descongele rápidamente el vial sumergiéndolo en un baño de agua a 37 °C con agua limpia y un agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40 a 60 segundos hasta que quede un pequeño trozo de hielo.
4. Realice todos los pasos posteriores en condiciones estériles bajo una cabina de flujo laminar, desinfectando el criovial con etanol al 70 % antes de abrirlo.
5. Abra con cuidado el vial desinfectado y transfiera la suspensión celular a un tubo de centrífuga de 15 ml que contenga 8 ml de medio de cultivo a temperatura ambiente, mezclando suavemente.
6. Centrifugue la mezcla a 300 x g durante 3 minutos para separar las células y deseche con cuidado el sobrenadante que contenga medio de congelación residual.
7. Resuspende suavemente el sedimento celular en 10 ml de medio de cultivo fresco. Para las células adherentes, divide la suspensión entre dos frascos de cultivo T25; para los cultivos en suspensión, transfiere todo el medio a un solo frasco T25 para promover una interacción y un crecimiento celular efectivos.
8. Siga los protocolos de subcultivo establecidos para el crecimiento y mantenimiento continuos de la línea celular, asegurando resultados experimentales confiables.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % de CO₂, atmósfera humidificada.

Shipping Conditions

Las líneas celulares criopreservadas se envían en hielo seco, en un embalaje aislante validado que contiene suficiente refrigerante para mantener una temperatura de aproximadamente -78 °C durante todo el transporte. Al recibir el envío, revise el contenedor de inmediato y traslade los viales sin demora al lugar de almacenamiento adecuado.

Células NRK-4 λ N22-3xmEGFP-M9 | 500672

Storage Conditions

Para la conservación a largo plazo, coloque los viales en nitrógeno líquido en fase de vapor a una temperatura de entre -150 y -196 °C, aproximadamente. El almacenamiento a -80 °C solo es aceptable como un paso intermedio breve antes de transferirlos al nitrógeno líquido.

Control de calidad y análisis molecular

Sterility

Se descarta la contaminación por micoplasmas mediante ensayos basados en PCR y métodos de detección de micoplasmas basados en luminiscencia.

Para garantizar que no haya contaminación bacteriana, fúngica o por levaduras, los cultivos celulares se someten a inspecciones visuales diarias.