

Cellules NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 | 500672**Renseignements généraux****Description**

La lignée cellulaire NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 est une lignée cellulaire clonale stable dérivée de cellules rénales normales de rat (NRK) par transfection d'un plasmide circulaire. Ce plasmide contient des constructions génétiques codant pour quatre répétitions en tandem de sites de liaison à l'ARN lambda N22 et trois répétitions en tandem de marqueurs mEGFP (protéine fluorescente verte monomérique améliorée) fusionnés au signal de localisation nucléaire M9. Après la transfection, les cellules ont été soumises à une sélection par résistance aux médicaments afin d'assurer la stabilité des modifications génétiques.

Environ 50 % des cellules de cette lignée clonale stable expriment le marqueur fluorescent 4xλN22-3xmEGFP-M9, ce qui indique que l'incorporation du plasmide a réussi. L'expression de ce marqueur permet la visualisation en temps réel des processus intracellulaires, facilitée par le signal fluorescent puissant de la mEGFP. Le signal de localisation nucléaire M9 garantit que les protéines de fusion exprimées sont transportées vers le noyau, ce qui rend cette lignée cellulaire particulièrement utile pour l'étude du transport nucléaire-cytoplasmique, de la dynamique de l'ARN et de la régulation de l'expression génique.

Cette lignée cellulaire NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 est précieuse pour les chercheurs qui s'intéressent aux interactions entre les protéines de liaison à l'ARN, au métabolisme de l'ARN et aux mécanismes sous-jacents à l'importation et à l'exportation nucléaires. La présence du marqueur mEGFP permet d'utiliser des techniques d'imagerie avancées telles que la microscopie confocale et l'imagerie de cellules vivantes, offrant ainsi un aperçu détaillé de la dynamique spatiale et temporelle des composants cellulaires. Malgré sa variété, cette lignée cellulaire demeure un outil puissant pour analyser les voies moléculaires complexes et comprendre les fonctions cellulaires à un niveau plus approfondi.

Organism Rat**Tissue** Rein**Synonyms** NRK 4xλN22-3xmEGFP-M9**Caractéristiques****Breed/Subspecies** OsborneMendel**Morphology** Cellules de type fibroblastes de forme fusiforme**Growth properties** Monocouche, adhérente**Données réglementaires****Citation** NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 (numéro de catalogue Cytion 500672)

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

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10116
CellosaurusAccession	CVCL_AV97
Depositor	Le laboratoire Ellenberg (EMBL)

Données biomoléculaires

Receptors expressed	Facteur de croissance épidermique (EGF), activité stimulatrice de la multiplication (MSA)
Protein expression	4xλN22-3xmEGFP-M9 : Emplacement/gène : 937..1009, 1066..1138, 1194..1261, 1323..1390 / peptide lambda, 1462..2176, 2179..2890, 2896..3612 / mEGFP, 3612..3815 / M9-His, 5090..5884 / KanR/NeoR, 7195..584 / Pcmv
Products	Étiquette M9-His entre BsrG1/HindIII, néomycine, phosphotransférase, promoteur CMV

Manipulation

Culture Medium	DMEM, p/v : 4,5 g/L de glucose, p/v : 4 mM de L-glutamine, p/v : 3,7 g/L de NaHCO ₃ , p/v : 1,0 mM de pyruvate de sodium (référence Cytion 820300a)
Supplements	Ajouter au milieu 10 % de FBS et 0,5 mg/mL de G418
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Jetez l'ancien milieu et lavez les cellules avec du PBS. Ajouter une solution fraîchement préparée de 0,025 % de trypsine et 0,02 % d'EDTA, chauffée à 37 degrés Celsius, et attendre que les cellules se détachent, ce qui prend habituellement environ 5 minutes. Neutraliser la trypsine en ajoutant du milieu frais, puis transférer le mélange cellulaire dans un tube et centrifuger. Après la centrifugation, retirer le surnageant, remettre le culot cellulaire en suspension dans du milieu de culture frais, puis transférer la suspension dans de nouveaux flacons. Incorporer du G418 dans le milieu de culture pour obtenir une concentration finale de 0,5 mg/ml.
Seeding density	de 2 à 4 × 10 ⁴ cellules/cm ²
Fluid renewal	2 à 3 fois par semaine

Cellules NRK-4 λ N22-3xEGFP-M9 | 500672

Freeze medium

Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (contenant du sérum foetal bovin) + 10 % de DMSO pour assurer une viabilité adéquate après décongélation, ou du CM-1 (référence Cytion 800100), qui contient des osmoprotecteurs et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryoconservation.

Thawing and Culturing Cells

1. Assurez-vous que le flacon reste bien congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche afin de maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. À la réception, conservez immédiatement le cryofiole à une température inférieure à -150 °C pour garantir la préservation de l'intégrité cellulaire, ou passez à l'étape 3 si une culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une culture immédiate, décongelez rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37 °C contenant de l'eau propre et un agent antimicrobien, en agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit morceau de glace.
4. Effectuez toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux laminaire, en désinfectant le cryotube avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrez avec précaution le flacon désinfecté et transférez la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant délicatement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules, puis jeter avec précaution le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre délicatement le culot cellulaire en suspension dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension dans deux flacons de culture T25; pour les cultures en suspension, transférer la totalité du milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance cellulaires efficaces.
8. Respectez les protocoles de sous-culture établis pour assurer la croissance continue et le maintien de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % de CO₂, atmosphère humidifiée.

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées dans de la glace sèche, dans un emballage isotherme validé contenant suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C pendant tout le transport. À la réception, inspectez immédiatement le conteneur et transférez sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

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

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placez les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre environ -150 et -196 °C. L'entreposage à -80 °C n'est acceptable qu'à titre d'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle de la qualité et analyse moléculaire

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes par luminescence.

Afin de s'assurer qu'il n'y a aucune contamination bactérienne, fongique ou par des levures, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.