

**Células NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 | 500672****Informações gerais****Description**

A linhagem celular NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 é uma linhagem celular clonal estável derivada de células renais normais de rato (NRK) por meio da transfecção de um plasmídeo circular. Esse plasmídeo contém construções genéticas que codificam quatro repetições em tandem de sítios de ligação ao RNA lambda N22 e três repetições em tandem de marcadores mEGFP (proteína fluorescente verde monomérica aprimorada) fundidos com o sinal de localização nuclear M9. Após a transfecção, as células foram submetidas a seleção por resistência a medicamentos para garantir a estabilidade das modificações genéticas.

Aproximadamente 50% das células dessa linha clonal estável expressam o marcador fluorescente 4xλN22-3xmEGFP-M9, indicando a incorporação bem-sucedida do plasmídeo. A expressão desse marcador permite a visualização em tempo real de processos intracelulares, facilitada pelo robusto sinal fluorescente da mEGFP. O sinal de localização nuclear M9 garante que as proteínas de fusão expressas sejam transportadas para o núcleo, tornando essa linhagem celular particularmente útil para o estudo do transporte nuclear-citoplasmático, da dinâmica do RNA e da regulação da expressão gênica.

Essa linha celular NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 é valiosa para pesquisadores que se dedicam às interações de proteínas de ligação ao RNA, ao metabolismo do RNA e aos mecanismos subjacentes à importação e exportação nuclear. A presença do marcador mEGFP permite o uso de técnicas avançadas de imagem, como microscopia confocal e imagem de células vivas, proporcionando insights detalhados sobre a dinâmica espacial e temporal dos componentes celulares. Apesar da variação, a linhagem celular continua sendo uma ferramenta poderosa para analisar vias moleculares complexas e compreender as funções celulares em um nível mais profundo.

**Organism** Rato**Tissue** Rim**Synonyms** NRK 4xλN22-3xmEGFP-M9**Características****Breed/Subspecies** OsborneMendel**Morphology** Células semelhantes a fibroblastos, com forma fusiforme**Growth properties** Monocamada, aderente**Dados regulatórios****Citation** NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 (número de catálogo da Cytion 500672)

## Células NRK-4xλN22-3xmEGFP-M9 | 500672

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 10116

**CellosaurusAccession** CVCL\_AV97

**Depositor** Laboratório Ellenberg (EMBL)

### Dados biomoleculares

**Receptors expressed** Fator de crescimento epidérmico (EGF), atividade estimuladora da multiplicação (MSA)

**Protein expression** 4xλN22-3xmEGFP-M9: Localização/Gene: 937..1009, 1066..1138, 1194..1261, 1323..1390 / peptídeo lambda, 1462..2176, 2179..2890, 2896..3612 / mEGFP, 3612..3815 / M9-His, 5090..5884 / KanR/NeoR, 7195..584 / Pcmv

**Products** Tag M9-His entre BsrG1/HindIII, neomicina, fosfotransferase, promotor do CMV

### Manuseio

**Culture Medium** DMEM, p/v: 4,5 g/L de glicose, p/v: 4 mM de L-glutamina, p/v: 3,7 g/L de NaHCO<sub>3</sub>, p/v: 1,0 mM de piruvato de sódio (número de artigo da Cytion 820300a)

**Supplements** Adicione ao meio 10% de FBS e 0,5 mg/mL de G418

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Descarte o meio antigo e lave as células com PBS. Adicione uma solução recém-preparada de 0,025% de tripsina/0,02% de EDTA aquecida a 37 graus Celsius e aguarde até que as células se desprendam, o que geralmente leva cerca de 5 minutos. Neutralize a tripsina adicionando meio fresco e, em seguida, transfira a mistura celular para um tubo e centrifugue. Após a centrifugação, remova o sobrenadante, ressuspensa o sedimento celular em meio de cultura fresco e transfira a suspensão para novos frascos. Incorpore G418 ao meio de cultura para atingir uma concentração final de 0,5 mg/ml

**Seeding density** 2 a 4 x 10<sup>4</sup> células/cm<sup>2</sup>

**Fluid renewal** 2 a 3 vezes por semana

## Células NRK-4 $\lambda$ N22-3xmEGFP-M9 | 500672

### Freeze medium

Como meio de criopreservação, utilizamos meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% de DMSO para garantir viabilidade adequada após o descongelamento, ou CM-1 (número de catálogo da Cytion 800100), que inclui osmoprotetores e estabilizadores metabólicos otimizados para melhorar a recuperação e reduzir o estresse induzido pela criopreservação.

### Thawing and Culturing Cells

1. Verifique se o frasco permanece profundamente congelado no momento da entrega, pois as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após o recebimento, armazene o criovial imediatamente a temperaturas abaixo de -150 °C para garantir a preservação da integridade celular ou prossiga para a etapa 3, caso seja necessária a cultura imediata.
3. Para cultura imediata, descongele rapidamente o frasco imergindo-o em um banho-maria a 37 °C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente por 40 a 60 segundos até que reste apenas um pequeno pedaço de gelo.
4. Realize todas as etapas subsequentes em condições estéreis em uma cabine de fluxo, desinfetando o criovial com etanol a 70% antes de abri-lo.
5. Abra cuidadosamente o frasco desinfetado e transfira a suspensão celular para um tubo de centrífuga de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando delicadamente.
6. Centrifugue a mistura a 300 x g por 3 minutos para separar as células e descarte cuidadosamente o sobrenadante contendo o meio de congelamento residual.
7. Ressuspender suavemente o sedimento celular em 10 ml de meio de cultura fresco. Para células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; para culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 a fim de promover a interação e o crescimento celular eficazes.
8. Siga os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento contínuo e a manutenção da linhagem celular, garantindo resultados experimentais confiáveis.

### Incubation Atmosphere

37 °C, 5% de CO<sub>2</sub>, atmosfera umidificada.

### Shipping Conditions

As linhagens celulares criopreservadas são enviadas em gelo seco, em embalagens isoladas e validadas, com refrigerante suficiente para manter a temperatura em aproximadamente -78 °C durante todo o transporte. Ao receber a remessa, inspecione o recipiente imediatamente e transfira os frascos sem demora para o local de armazenamento adequado.

## Células NRK-4 $\lambda$ N22-3xmEGFP-M9 | 500672

### Storage Conditions

Para preservação a longo prazo, coloque os frascos em nitrogênio líquido em fase de vapor a uma temperatura entre aproximadamente  $-150$  e  $-196$  °C. O armazenamento a  $-80$  °C é aceitável apenas como uma etapa intermediária de curta duração antes da transferência para o nitrogênio líquido.

## Controle de Qualidade e Análise Molecular

### Sterility

A contaminação por micoplasma é descartada por meio de ensaios baseados em PCR e de métodos de detecção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não haja contaminação por bactérias, fungos ou leveduras, as culturas celulares são submetidas a inspeções visuais diárias.