

Tế bào NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 | 500672**Thông tin chung****Description**

Dòng tế bào NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 là một dòng tế bào ổn định được tạo ra từ tế bào thận bình thường của chuột (NRK) thông qua quá trình chuyển gen bằng plasmid tròn. Plasmid này chứa các cấu trúc gen mã hóa bốn đoạn lặp lại liên tiếp của vùng liên kết RNA lambda N22 và ba đoạn lặp lại liên tiếp của thẻ mEGFP (protein huỳnh quang xanh lá cây tăng cường dạng đơn phân) được gắn với tín hiệu định vị nhân M9. Sau quá trình chuyển gen, các tế bào được chọn lọc kháng thuốc để đảm bảo tính ổn định của các sửa đổi gen.

Khoảng 50% tế bào trong dòng tế bào ổn định này biểu hiện dấu hiệu huỳnh quang 4xλN22-3xmEGFP-M9, cho thấy việc tích hợp plasmid thành công. Việc biểu hiện dấu hiệu này cho phép quan sát trực tiếp các quá trình nội bào, nhờ vào tín hiệu huỳnh quang mạnh mẽ của mEGFP. Dấu hiệu định vị nhân M9 đảm bảo rằng các protein liên hợp được biểu hiện được vận chuyển đến nhân, khiến dòng tế bào này đặc biệt hữu ích cho việc nghiên cứu vận chuyển nhân-chất tế bào, động học RNA và điều hòa biểu hiện gen.

Dòng tế bào NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 này có giá trị đối với các nhà nghiên cứu tập trung vào tương tác của protein liên kết RNA, chuyển hóa RNA và các cơ chế cơ bản của vận chuyển vào và ra khỏi nhân. Sự hiện diện của dấu hiệu mEGFP cho phép sử dụng các kỹ thuật hình ảnh tiên tiến như kính hiển vi confocal và hình ảnh tế bào sống, cung cấp cái nhìn chi tiết về động học không gian và thời gian của các thành phần tế bào. Mặc dù có sự đa dạng về hình thái, dòng tế bào này vẫn là công cụ mạnh mẽ để phân tích các con đường phân tử phức tạp và hiểu rõ hơn về chức năng tế bào ở mức độ sâu hơn.

Organism Chuột**Tissue** Thận**Synonyms** NRK 4xλN22-3xmEGFP-M9**Đặc điểm****Breed/Subspecies** Osborne Mendel**Morphology** Tế bào giống fibroblast có hình dạng fusiform**Growth properties** Lớp đơn, bám dính**Dữ liệu quy định****Citation** NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 (Số catalog Cytion 500672)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10116

Tế bào NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 | 500672**CellosaurusAccession** CVCL_AV97**Depositor** Phòng thí nghiệm Ellenberg (EMBL)**Dữ liệu sinh học phân tử****Receptors expressed** Yếu tố tăng trưởng biểu bì (EGF), hoạt tính kích thích nhân lên (MSA)**Protein expression** 4xλN22-3xmEGFP-M9: Vị trí/Gen: 937..1009, 1066..1138, 1194..1261, 1323..1390 / peptid lambda, 1462..2176, 2179..2890, 2896..3612 / mEGFP, 3612..3815 / M9-His, 5090..5884 / KanR/NeoR, 7195..584 / Pcmv**Products** Thẻ M9-His nằm giữa BsrG1/HindIII, Neomycin, Phosphotransferase, Promotor CMV**Xử lý****Culture Medium** DMEM, chứa: 4,5 g/L glucose, chứa: 4 mM L-glutamine, chứa: 3,7 g/L NaHCO₃, chứa: 1,0 mM natri pyruvate (số hiệu sản phẩm Cytion 820300a)**Supplements** Bổ sung vào môi trường nuôi cấy 10% huyết thanh bò phôi (FBS) và 0,5 mg/mL G418**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Loại bỏ môi trường cũ và rửa tế bào bằng PBS. Thêm dung dịch trypsin 0,025%/EDTA 0,02% mới pha, đã được làm nóng đến 37 độ Celsius, và chờ cho đến khi tế bào tách ra, thường mất khoảng 5 phút. Trung hòa trypsin bằng cách thêm môi trường tươi, sau đó chuyển hỗn hợp tế bào vào ống và ly tâm. Sau khi ly tâm, loại bỏ dịch trên, tái phân tán cận tế bào trong môi trường nuôi cấy tươi và chuyển hỗn hợp vào bình mới. Thêm G418 vào môi trường nuôi cấy để đạt nồng độ cuối cùng 0,5 mg/ml**Split ratio** Tỷ lệ khuyến nghị là từ 1:3 đến 1:4**Seeding density** 2 đến 4×10^4 tế bào/cm²**Fluid renewal** 2 đến 3 lần mỗi tuần**Freeze medium** Như một môi trường bảo quản đông lạnh, chúng tôi sử dụng môi trường tăng trưởng hoàn chỉnh (bao gồm FBS) + 10% DMSO để đảm bảo độ sống sau khi rã đông, hoặc CM-1 (mã sản phẩm Cytion 800100), bao gồm các chất bảo vệ thẩm thấu và chất ổn định chuyển hóa được tối ưu hóa để nâng cao khả năng phục hồi và giảm stress do đông lạnh gây ra.

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

1. Xác nhận rằng ống nghiệm vẫn được đông lạnh sâu khi giao hàng, vì tế bào được vận chuyển trên đá khô để duy trì nhiệt độ tối ưu trong quá trình vận chuyển.
2. Khi nhận hàng, hãy bảo quản ống nghiệm đông lạnh ngay lập tức ở nhiệt độ dưới -150°C để đảm bảo tính toàn vẹn của tế bào, hoặc tiến hành bước 3 nếu cần nuôi cấy ngay lập tức.
3. Để nuôi cấy ngay lập tức, hãy rã đông ống nghiệm nhanh chóng bằng cách ngâm nó trong bồn nước 37°C với nước sạch và chất kháng khuẩn, khuấy nhẹ trong 40-60 giây cho đến khi còn lại một khối băng nhỏ.
4. Thực hiện tất cả các bước tiếp theo trong điều kiện vô trùng trong tủ hút khí, khử trùng ống cryovial bằng cồn 70% trước khi mở.
5. Mở ống đã khử trùng một cách cẩn thận và chuyển hỗn hợp tế bào vào ống ly tâm 15 ml chứa 8 ml môi trường nuôi cấy ở nhiệt độ phòng, khuấy nhẹ.
6. Ly tâm hỗn hợp ở $300 \times g$ trong 3 phút để tách tế bào và cẩn thận loại bỏ dịch siêu âm chứa môi trường đông lạnh còn lại.
7. Nhẹ nhàng hòa tan lại khối tế bào trong 10 ml môi trường nuôi cấy tươi. Đối với tế bào bám dính, chia hỗn hợp vào hai bình nuôi cấy T25; đối với tế bào nuôi cấy lơ lửng, chuyển toàn bộ môi trường vào một bình T25 để thúc đẩy tương tác và phát triển tế bào hiệu quả.
8. Tuân thủ các quy trình nuôi cấy con được thiết lập để duy trì sự phát triển và bảo quản dòng tế bào, đảm bảo kết quả thí nghiệm đáng tin cậy.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , môi trường ẩm.

Flask Coating

Không có

**Freezing
Procedure**

Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng -78°C trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.

**Shipping
Conditions**

Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng -78°C trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.

Tế bào NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 | 500672

Storage Conditions

Để bảo quản lâu dài, hãy đặt ống nghiệm vào nitơ lỏng ở pha hơi ở nhiệt độ khoảng -150 đến -196 °C. Việc bảo quản ở -80 °C chỉ được chấp nhận như một bước trung gian ngắn hạn trước khi chuyển sang nitơ lỏng.

Kiểm soát chất lượng / Hồ sơ di truyền / HLA

Sterility

Sự nhiễm khuẩn Mycoplasma được loại trừ bằng cả các phương pháp xét nghiệm dựa trên PCR và các phương pháp phát hiện Mycoplasma dựa trên phát quang.

Để đảm bảo không có nhiễm khuẩn vi khuẩn, nấm hoặc men, các mẫu nuôi cấy tế bào được kiểm tra trực quan hàng ngày.

Hồ sơ 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