NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9

500672

INFORMACIÓN GENERAL

Descripción

La línea celular NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 es una línea celular clonal estable derivada de células normales de riñón 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 a ARN lambda N22 y tres repeticiones en tándem de etiquetas mEGFP (proteína verde fluorescente monomérica mejorada) fusionadas con la señal de localización nuclear M9. Tras la transfección, las células se sometieron a una selección de 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 la correcta incorporación del plásmido. La expresión de este marcador permite la visualización en tiempo real de los procesos intracelulares, facilitada por la robusta señal fluorescente de la mEGFP. La señal de localización nuclear M9 asegura que las proteínas de fusión expresadas son 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 centran en las interacciones de las proteínas de unión a 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 de imagen avanzadas como la microscopía confocal y la imagen de células vivas, lo que proporciona una visión detallada de la dinámica espacial y temporal de los componentes celulares. A pesar de la variegación, la línea celular sigue siendo una poderosa herramienta para diseccionar vías moleculares complejas y comprender las funciones celulares a un nivel más profundo.

Pañuelo de papel	Riñón

Sinónimos

- NRK 4xlN22-3xmEGFP-M9

CLASIFICACIÓN

Organismo	Rata
Propiedades de crecimiento	Adherente
Nivel de bioseguridad	1

CARACTERÍSTICAS

Morfología	Células similares a fibroblastos con forma fusiforme

IDENTIFICADORES

Referencia

NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 (número de catálogo de Cytion 500672)

N.º de identificación fiscal del NCBI	10116
Cellosaurus	CVCL_AV97
Depositario	Laboratorio Ellenberg (EMBL)

EXPRESIÓN Y SUSCEPTIBILIDAD

Receptores expresados

Factor de crecimiento epidérmico (EGF), actividad estimulante de la multiplicación (MSA)

Cytion GmbH
Nikola-Tesla-Str. 3
69124 Heidelberg
Tel: +49 (0)6221 405780
info@cytion.com
cytion.com

Registered office Heidelberg
VAT ID: DE283292917
Local court Mannheim - HRB 714394
CEO / Geschäftsführer: Jonathan Steubing

Banking information
Sparkasse Heidelberg
IBAN: DE35 6725 0020 0009 2076 86
BIC: SOLADES1HDB

Expresión de proteínas

4xλN22-3xmEGFP-M9: Localización/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

Productos

Etiqueta M9-His entre BsrG1/HindIII, Neomicina, Fosfotransferasa, Promotor CMV

MANEJO Y CULTIVO

Medio de cultivo

DMEM, w: 4,5 g/L de glucosa, w: 4 mM de L-glutamina, w: 3,7 g/L de NaHCO3, w: 1,0 mM de piruvato sódico (número de artículo de Cytion 820300a)

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

Suplementos

Suplementar el medio con 10% FBS, 0,5 mg/mL G418

Reactivo de disociación	Accutase

Subcultivo

Deseche el medio antiguo y lave las células con PBS. Añadir una solución de tripsina al 0,025%/0,02% EDTA recién preparada y calentada a 37 grados Celsius y esperar hasta que las células se desprendan, lo que suele tardar unos 5 minutos. Neutralizar la tripsina añadiendo medio fresco, luego transferir la mezcla celular a un tubo y centrifugar. Tras la centrifugación, eliminar el sobrenadante, resuspender el sedimento celular en medio de cultivo fresco y transferir la suspensión a nuevos matraces. Incorporar G418 al medio de cultivo para alcanzar una concentración final de 0,5 mg/ml

Densidad de siembra	De 2 a 4 x 10^4 células/cm^2
Renovación de fluidos	de 2 a 3 veces por semana

Descongelación y cultivo

Confirm that the vial remains deeply frozen upon delivery, as cells are shipped on dry ice to maintain optimal temperatures during transit.
Upon receipt, either store the cryovial immediately at temperatures below -150°C to ensure the preservation of cellular integrity, or proceed to step 3 if immediate culturing is required.
For immediate culturing, swiftly thaw the vial by immersing it in a 37°C water bath with clean water and an antimicrobial agent, agitating gently for 40-60 seconds until a small ice clump remains.
Perform all subsequent steps under sterile conditions in a flow hood, disinfecting the cryovial with 70% ethanol before opening.
Carefully open the disinfected vial and transfer the cell suspension into a 15 ml centrifuge tube containing 8 ml of room-temperature culture medium, mixing gently.
Centrifuge the mixture at 300 x g for 3 minutes to separate the cells and carefully discard the supernatant containing residual freezing medium.
Gently resuspend the cell pellet in 10 ml of fresh culture medium. For adherent cells, divide the suspension between two T25 culture flasks; for suspension cultures, transfer all the medium into one T25 flask to promote effective cell interaction and growth.
Adhere to established subculture protocols for continued growth and maintenance of the cell line, ensuring reliable experimental outcomes.

CONTROL DE CALIDAD Y CRIOPRESERVACIÓN

Esterilidad

La contaminación por micoplasma se excluye utilizando tanto ensayos basados en la PCR como métodos de detección de micoplasma basados en la luminiscencia.
Para garantizar la ausencia de contaminación bacteriana, fúngica o por levaduras, los cultivos celulares se someten a inspecciones visuales diarias.

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

Condiciones de almacenamiento

Para la conservación a largo plazo, colocar los viales en nitrógeno líquido en fase vapor a una temperatura aproximada de -150 a -196 °C. El almacenamiento a -80 °C sólo es aceptable como breve paso intermedio antes de la transferencia al nitrógeno líquido.

Condiciones de envío

Las líneas celulares crioconservadas se envían en hielo seco en envases validados y aislados con suficiente refrigerante para mantener aproximadamente -78 °C durante el tránsito. A la recepción, inspeccione el envase inmediatamente y transfiera los viales sin demora al almacenamiento adecuado.

DONANTE

Raza / subespecie	OsborneMendel

ASPECTOS LEGALES Y DE SEGURIDAD

Medidas de seguridad

Cuando se planea almacenar un criovial en nitrógeno líquido para su futura descongelación, es obligatorio cumplir estrictas medidas de seguridad. Es esencial utilizar guantes y ropa de protección adecuados, así como una mascarilla o gafas de seguridad durante el traslado de muestras congeladas desde o hacia el tanque de nitrógeno líquido. Con ello se pretende mitigar el riesgo de lesiones por posibles explosiones crioviales al extraerlas, que pueden dar lugar a la proyección de fragmentos afilados.

Aviso legal

Nuestras células se suministran exclusivamente con fines de investigación in vitro en laboratorio y no están destinadas a uso clínico o diagnóstico, ni deben administrarse a seres humanos ni utilizarse con fines veterinarios. Los usuarios deben cumplir todas las directrices y normativas aplicables para la manipulación y el uso de estas células en un entorno de investigación.

Garantía

En Cytion, respaldamos la calidad y viabilidad de nuestros productos.
Garantizamos que nuestras células serán viables al inicio del cultivo durante los 60 días posteriores al envío desde nuestras instalaciones.
Aseguramos que todos los materiales se ajustan a las especificaciones descritas en el Certificado de Análisis y/o Hoja de Producto
Para más información, consulte nuestra <a href=""/Quiénes somos/Garantía/"" hreflang=""x-default"">Declaración de garantía

Se aplican los acuerdos con terceros	Yes