NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9

500672

GENERAL INFORMATION

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.

Tissue	Riñón

Synonyms

- NRK 4xlN22-3xmEGFP-M9

CLASSIFICATION

Organism	Rat
Growth properties	Adherent
Biosafety level	1

CHARACTERISTICS

Morphology	Células similares a los fibroblastos con forma fusiforme

IDENTIFIERS

Citation

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

NCBI TaxID	10116
Cellosaurus	CVCL_AV97
Depositor	El Laboratorio Ellenberg (EMBL)

EXPRESSION AND SUSCEPTIBILITY

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

HANDLING AND CULTURE

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)

Incubation atmosphere	37 °C, 5 % de CO_2, atmósfera humidificada.

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

Thawing and culturing

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.

QUALITY CONTROL AND CRYOPRESERVATION

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.

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.

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.

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.

DONOR

Breed / subspecies	OsborneMendel

LEGAL AND SAFETY

Safety precautions

Cuando se planea almacenar un criovial en nitrógeno líquido para su descongelación futura, es obligatorio cumplir con estrictas medidas de seguridad. Es esencial contar con guantes y ropa de protección adecuados, y se requiere el uso de una mascarilla o lentes de seguridad durante la transferencia de muestras congeladas hacia o desde el tanque de nitrógeno líquido. Esto tiene como objetivo mitigar el riesgo de lesiones por posibles explosiones de los criotubos al retirarlos, lo que puede provocar la proyección de fragmentos afilados.

Disclaimer

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

Warranty

En Cytion, respaldamos la calidad y la viabilidad de nuestros productos.
Garantizamos que nuestras células serán viables al inicio del cultivo durante
60 días a partir de la fecha de envío desde nuestras instalaciones.
Aseguramos que todos los materiales cumplen con las especificaciones descritas en el
Certificado de Análisis y/o la Ficha del Producto.
Para obtener más detalles, consulte nuestra
Declaración de garantía.

Third-party agreements apply	Yes