NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9

500672

GENERAL INFORMATION

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.

Tissue	Rein

Synonyms

- NRK 4xlN22-3xmEGFP-M9

CLASSIFICATION

Organism	Rat
Growth properties	Adherent
Biosafety level	1

CHARACTERISTICS

Morphology	Cellules de type fibroblastes de forme fusiforme

IDENTIFIERS

Citation

NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 (numéro de catalogue Cytion 500672)

NCBI TaxID	10116
Cellosaurus	CVCL_AV97
Depositor	Le laboratoire Ellenberg (EMBL)

EXPRESSION AND SUSCEPTIBILITY

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

HANDLING AND CULTURE

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)

Incubation atmosphere	37 °C, 5 % de CO_2, atmosphère humidifiée.

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

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

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.

Freeze medium	Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (contenant du sérum fœtal 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.

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.

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.

DONOR

Breed / subspecies	OsborneMendel

LEGAL AND SAFETY

Safety precautions

Lorsqu'on prévoit entreposer un cryotube dans de l'azote liquide en vue d'une décongélation ultérieure, il est impératif de respecter des mesures de sécurité rigoureuses. Le port de gants et de vêtements de protection appropriés est essentiel, et l'utilisation d'un masque facial ou de lunettes de protection est obligatoire lors du transfert d'échantillons congelés vers ou depuis le réservoir d'azote liquide. Cette précaution vise à réduire le risque de blessure causé par d'éventuelles explosions de cryotubes lors de leur retrait, pouvant entraîner la projection de fragments coupants.

Disclaimer

Nos cellules sont fournies exclusivement à des fins de recherche in vitro en laboratoire et ne sont pas destinées à un usage clinique ou diagnostique; elles ne doivent pas non plus être administrées à des humains ni utilisées à des fins vétérinaires. Les utilisateurs doivent respecter toutes les lignes directrices et tous les règlements applicables concernant la manipulation et l'utilisation de ces cellules dans un contexte de recherche.

Warranty

Chez Cytion, nous garantissons la qualité et la viabilité de nos produits.
Nous garantissons que nos cellules seront viables au début de la culture pendant 60 jours à compter de leur expédition depuis nos installations.
Nous assurons que tous les matériaux sont conformes aux spécifications décrites dans le certificat d'analyse et/ou la fiche technique du produit.
Pour plus de détails, veuillez consulter notre déclaration de garantie.

Third-party agreements apply	Yes

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