NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9

500672

GENERAL INFORMATION

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 linhagem 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 entre 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.

Tissue	Rim

Synonyms

- NRK 4xlN22-3xmEGFP-M9

CLASSIFICATION

Organism	Rat
Growth properties	Adherent
Biosafety level	1

CHARACTERISTICS

Morphology	Células semelhantes a fibroblastos, com forma fusiforme

IDENTIFIERS

Citation

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

NCBI TaxID	10116
Cellosaurus	CVCL_AV97
Depositor	Laboratório Ellenberg (EMBL)

EXPRESSION AND SUSCEPTIBILITY

Receptors expressed

Fator de crescimento epidérmico (EGF), atividade estimuladora da multiplicação (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

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

HANDLING AND CULTURE

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 $NaHCO_3$, p/v: 1,0 mM de piruvato de sódio (número de artigo da Cytion 820300a)

Incubation atmosphere	37 °C, 5% de CO_2, atmosfera umidificada.

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, ressuspenda 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 10^4 células/cm^2
Fluid renewal	2 a 3 vezes 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

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.

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.

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.

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.

DONOR

Breed / subspecies	OsborneMendel

LEGAL AND SAFETY

Safety precautions

Ao planejar o armazenamento de um criotubo em nitrogênio líquido para descongelamento futuro, é obrigatório seguir medidas de segurança rigorosas. É essencial o uso de luvas e roupas de proteção adequadas, além do uso obrigatório de máscara facial ou óculos de proteção durante a transferência de amostras congeladas para dentro ou para fora do tanque de nitrogênio líquido. Isso visa mitigar o risco de ferimentos decorrentes de possíveis explosões dos criotubos durante a remoção, o que pode resultar na projeção de fragmentos pontiagudos.

Disclaimer

Nossas células são fornecidas exclusivamente para fins de pesquisa laboratorial in vitro e não se destinam ao uso clínico ou diagnóstico, nem devem ser administradas a seres humanos ou utilizadas para fins veterinários. Os usuários devem cumprir todas as diretrizes e regulamentações aplicáveis ao manuseio e uso dessas células em um ambiente de pesquisa.

Warranty

Na Cytion, garantimos a qualidade e a viabilidade de nossos produtos.
Garantimos que nossas células permanecerão viáveis no início da cultura por
60 dias após o envio de nossas instalações.
Asseguramos que todos os materiais estão em conformidade com as especificações descritas no
Certificado de Análise e/ou na Ficha Técnica do Produto.
Para obter todos os detalhes, consulte nossa
Declaração de Garantia.

Third-party agreements apply	Yes