NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9

500672

ОБЩА ИНФОРМАЦИЯ

Описание

Клетъчната линия NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 е клонова стабилна клетъчна линия, получена от нормални плъши бъбречни клетки (NRK) чрез трансфекция на кръгов плазмид. Този плазмид съдържа генетични конструкти, кодиращи четири тандемни повторения на ламбда N22 РНК-свързващи места и три тандемни повторения на mEGFP (мономерен подобрен зелен флуоресцентен протеин), слети със сигнала за ядрена локализация M9. След трансфекцията клетките се подлагат на селекция за лекарствена устойчивост, за да се гарантира стабилността на генетичните модификации.
Приблизително 50 % от клетките в тази клонова стабилна линия експресират флуоресцентния маркер 4xλN22-3xmEGFP-M9, което показва успешно включване на плазмида. Експресията на този маркер позволява визуализация на вътреклетъчните процеси в реално време, улеснена от силния флуоресцентен сигнал на mEGFP. Сигналът за ядрена локализация на M9 гарантира, че експресираните фюжън протеини се транспортират до ядрото, което прави тази клетъчна линия особено полезна за изучаване на ядрено-цитоплазмения транспорт, динамиката на РНК и регулирането на генната експресия.
Тази клетъчна линия NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 е ценна за изследователи, които се фокусират върху взаимодействията между РНК-свързващи протеини, метаболизма на РНК и механизмите, които са в основата на ядрения внос и износ. Наличието на маркера mEGFP позволява използването на усъвършенствани техники за визуализация, като конфокална микроскопия и визуализация на живи клетки, което осигурява подробен поглед върху пространствената и времевата динамика на клетъчните компоненти. Въпреки варирането, клетъчната линия остава мощен инструмент за разчленяване на сложни молекулярни пътища и разбиране на клетъчните функции на по-дълбоко ниво.

Тъкан	Бъбреци

Синоними

- NRK 4xlN22-3xmEGFP-M9

КЛАСИФИКАЦИЯ

Организъм	Плъх
Свойства, свързани с растежа	Привърженик
Ниво на биологична безопасност	1

ХАРАКТЕРИСТИКИ

Морфология	Фибробластоподобни клетки с фузиформена форма

ИДЕНТИФИКАТОРИ

Източник

NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 (каталожен номер 500672 на Cytion)

Данъчен идентификационен номер в NCBI	10116
Целозавър	CVCL_AV97
Вложител	Лабораторията на Елънбърг (EMBL)

ПРОЯВА И ПРЕДРАЗПОЛОЖЕНОСТ

Експресирани рецептори

Епидермален растежен фактор (EGF), стимулираща мултипликацията активност (MSA)

Експресия на протеини

4xλN22-3xmEGFP-M9: Местоположение/ген: 937..1009, 1066..1138, 1194..1261, 1323..1390 / lambda пептид, 1462..2176, 2179..2890, 2896..3612 / mEGFP, 3612..3815 / M9-His, 5090..5884 / KanR/NeoR, 7195..584 / Pcmv

Продукти

M9-His таг между BsrG1/HindIII, неомицин, фосфотрансфераза, CMV промотор

ОБРАБОТКА И ОТГЛЕЖДАНЕ

Хранителна среда

DMEM, w: 4,5 g/L глюкоза, w: 4 mM L-глутамин, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM натриев пируват (номер на изделието на Cytion 820300a)

Атмосфера за инкубация	37°C, 5%CO2, овлажнена атмосфера.

Добавки

Допълнете средата с 10% FBS, 0,5 mg/ml G418

Реагент за дисоциация	Accutase

Пресаждане

Изхвърлете старата среда и промийте клетките с PBS. Добавете прясно приготвен 0,025% разтвор на трипсин/0,02% EDTA, загрят до 37 градуса по Целзий, и изчакайте, докато клетките се отделят, което обикновено отнема около 5 минути. Неутрализирайте трипсина, като добавите прясна среда, след което прехвърлете клетъчната смес в епруветка и центрофугирайте. След центрофугирането отстранете супернатантата, ресуспендирайте клетъчната пелета в прясна хранителна среда и прехвърлете суспензията в нови колби. Включете G418 в хранителната среда, за да достигнете крайна концентрация от 0,5 mg/ml

Плътност на засяването	2 до 4 x 10^4 клетки/cm^2
Обновяване на течността	2 до 3 пъти седмично

Размразяване и култивиране

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.

КОНТРОЛ НА КАЧЕСТВОТО И КРИОКОНСЕРВАЦИЯ

Стерилност

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.
За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.

Среда за замразяване	Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Условия за съхранение

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Условия за доставка

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед в утвърдени, изолирани опаковки с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

ДАРИТЕЛ

Порода / подвид	OsborneMendel

ПРАВНИ ВЪПРОСИ И БЕЗОПАСНОСТ

Мерки за безопасност

Когато планирате да съхранявате криопрепарат в течен азот за бъдещо размразяване, е задължително да спазвате строги мерки за безопасност. Подходящите защитни ръкавици и облекло са от съществено значение, а по време на прехвърлянето на замразени проби към или от резервоара с течен азот е необходимо да се използва маска за лице или предпазни очила. Това се прави, за да се намали рискът от нараняване от потенциални експлозии на криовиолите при изваждането им, които могат да доведат до изхвърляне на остри фрагменти.

Отказ от отговорност

Нашите клетки се предоставят изключително за целите на лабораторни изследвания in vitro и не са предназначени за клинична или диагностична употреба, нито да се прилагат на хора или да се използват за ветеринарни цели. Потребителите трябва да се придържат към всички приложими насоки и разпоредби за боравене и използване на тези клетки в изследователска среда.

Гаранция

Ние в Cytion заставаме зад качеството и жизнеспособността на нашите продукти.
Гарантираме, че нашите клетки ще бъдат жизнеспособни в началото на култивирането в продължение на 60 дни след изпращането им от нашите съоръжения.
Гарантираме, че всички материали отговарят на спецификациите, описани в сертификата за анализ и/или продуктовата листа
За пълни подробности, моля, направете справка с нашата <a href=""/Кои сме ние/Гаранция/"" hreflang=""x-default"">Гаранционна декларация

Прилагат се споразумения с трети страни	Yes