NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9

500672

GENERELLE OPLYSNINGER

Beskrivelse

NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9-cellelinjen er en klonal stabil cellelinje, der stammer fra normale rottenyreceller (NRK) gennem transfektion af et cirkulært plasmid. Dette plasmid indeholder genetiske konstruktioner, der koder for fire tandemgentagelser af lambda N22 RNA-bindingssteder og tre tandemgentagelser af mEGFP (monomeric enhanced green fluorescent protein) tags fusioneret med M9 nuklear lokaliseringssignal. Efter transfektionen gennemgik cellerne selektion for lægemiddelresistens for at sikre stabiliteten af de genetiske modifikationer.
Ca. 50 % af cellerne i denne stabile klonlinje udtrykker den fluorescerende markør 4xλN22-3xmEGFP-M9, hvilket indikerer en vellykket inkorporering af plasmidet. Udtrykket af denne markør giver mulighed for realtidsvisualisering af intracellulære processer, hvilket lettes af det robuste fluorescerende signal fra mEGFP. M9-kernelokaliseringssignalet sikrer, at de udtrykte fusionsproteiner transporteres til kernen, hvilket gør denne cellelinje særligt nyttig til at studere nuklear-cytoplasmatisk transport, RNA-dynamik og regulering af genekspression.
Denne NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9-cellelinje er værdifuld for forskere, der fokuserer på RNA-bindende proteininteraktioner, RNA-metabolisme og de mekanismer, der ligger til grund for nuklear import og eksport. Tilstedeværelsen af mEGFP-markøren muliggør avancerede billeddannelsesteknikker som konfokal mikroskopi og levende cellebilleder, hvilket giver detaljeret indsigt i den rumlige og tidsmæssige dynamik i cellulære komponenter. På trods af variationen er cellelinjen stadig et stærkt værktøj til at dissekere komplekse molekylære veje og forstå cellulære funktioner på et dybere niveau.

Væv	Nyre

Synonymer

- NRK 4xlN22-3xmEGFP-M9

KLASSIFICERING

Organisme	Rotte
Vækstegenskaber	Tilhænger
Biosikkerhedsniveau	1

EGENSKABER

Morfologi	Fibroblastlignende celler med fusiform form

IDENTIFIKATORER

Kildehenvisning

NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 (Cytion katalognummer 500672)

NCBI-skattenummer	10116
Cellosaurus	CVCL_AV97
Indskyder	Ellenberg-laboratoriet (EMBL)

UDTRYK OG MODTAGELIGHED

Udtrykte receptorer

Epidermal vækstfaktor (EGF), multiplikationsstimulerende aktivitet (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

Proteinekspression

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

Produkter

M9-His-tag mellem BsrG1/HindIII, neomycin, fosfotransferase, CMV-promotor

HÅNDTERING OG OPDRÆT

Næringsmedium

DMEM, w: 4,5 g/L glukose, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)

Inkubationsatmosfære	37°C, 5%CO2, befugtet atmosfære.

Kosttilskud

Suppler mediet med 10% FBS, 0,5 mg/mL G418

Dissociationsreagens	Accutase

Oddyrkning

Kassér det gamle medium, og vask cellerne med PBS. Tilsæt en frisklavet 0,025 % trypsin/0,02 % EDTA-opløsning, der er opvarmet til 37 grader Celsius, og vent, indtil cellerne løsner sig, hvilket normalt tager ca. 5 minutter. Neutraliser trypsinen ved at tilsætte frisk medium, overfør derefter celleblandingen til et rør og centrifuger. Efter centrifugering fjernes supernatanten, cellepelleten resuspenderes i frisk dyrkningsmedium, og suspensionen overføres til nye kolber. Tilsæt G418 til dyrkningsmediet for at opnå en endelig koncentration på 0,5 mg/ml

Såtæthed	2 til 4 x 10^4 celler/cm^2
Væskeudskiftning	2 til 3 gange om ugen

Optøning og dyrkning

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.

KVALITETSKONTROL OG KRYOPRÆSERVERING

Sterilitet

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder. For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.

Frysemedium	Som kryopræserveringsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.

Opbevaringsbetingelser

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Leveringsbetingelser

Kryopræserverede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

DONOR

Race / underart	OsborneMendel

JURIDISKE FORHOLD OG SIKKERHED

Sikkerhedsforanstaltninger

Når man planlægger at opbevare et kryovæske i flydende nitrogen med henblik på fremtidig optøning, er det obligatorisk at overholde strenge sikkerhedsforanstaltninger. Passende beskyttelseshandsker og -tøj er afgørende, og der skal bruges ansigtsmaske eller sikkerhedsbriller under overførslen af frosne prøver til eller fra tanken med flydende nitrogen. Dette er for at mindske risikoen for skader fra potentielle kryovæskeeksplosioner ved fjernelse, som kan resultere i projektion af skarpe fragmenter.

Ansvarsfraskrivelse

Vores celler leveres udelukkende til in vitro-laboratorieforskningsformål og er ikke beregnet til klinisk eller diagnostisk brug, og de må heller ikke administreres til mennesker eller bruges til veterinære formål. Brugere skal overholde alle gældende retningslinjer og regler for håndtering og brug af disse celler i en forskningsmæssig sammenhæng.

Garanti

Hos Cytіon står vi inde for vores produkters kvalitet og levedygtighed.
Vi garanterer, at vores celler vil være levedygtige ved kulturens start i 60 dage efter afsendelse fra vores faciliteter.
Vi sikrer, at alle materialer er i overensstemmelse med de specifikationer, der er beskrevet i analysecertifikatet og/eller produktarket
For alle detaljer henvises til vores <a href="”/Who-we-are/Warranty/”" hreflang="”x-default”">Garantierklæring

Der gælder aftaler med tredjeparter	Yes