NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9

500672

YLEISTÄ TIETOA

Kuvaus

NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9-solulinja on klonaalinen vakaa solulinja, joka on johdettu normaaleista rotan munuaissoluista (NRK-soluista) transfektoimalla ympyränmuotoinen plasmidi. Tämä plasmidi sisältää geneettisiä konstruktioita, jotka koodaavat neljää lambda N22 RNA:n sitoutumiskohtien tandemtoistoa ja kolme mEGFP (monomeerinen tehostettu vihreä fluoresoiva proteiini) -tunnisteiden tandemtoistoa, jotka on fuusioitu M9:n ydinalueen lokalisointisignaaliin. Transfektion jälkeen soluille tehtiin lääkeresistenssivalinta geneettisten muutosten vakauden varmistamiseksi.
Noin 50 prosenttia tämän vakaan kloonilinjan soluista ilmentää fluoresoivaa merkkiainetta 4xλN22-3xmEGFP-M9, mikä osoittaa plasmidin onnistunutta sisällyttämistä. Tämän merkkiaineen ilmentyminen mahdollistaa solunsisäisten prosessien reaaliaikaisen visualisoinnin, jota helpottaa mEGFP:n voimakas fluoresoiva signaali. M9:n ydinalueen lokalisointisignaali varmistaa, että ekspressoidut fuusioproteiinit kulkeutuvat tumaan, minkä vuoksi tämä solulinja on erityisen hyödyllinen ydin-sytoplasmakuljetuksen, RNA-dynamiikan ja geenien ekspression säätelyn tutkimiseen.
Tämä NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9-solulinja on arvokas tutkijoille, jotka keskittyvät RNA:ta sitovien proteiinien vuorovaikutuksiin, RNA:n metaboliaan ja ydintuonnin ja -viennin taustalla oleviin mekanismeihin. MEGFP-markkerin läsnäolo mahdollistaa kehittyneet kuvantamistekniikat, kuten konfokaalimikroskopian ja elävän solun kuvantamisen, ja antaa yksityiskohtaisen kuvan solun komponenttien alueellisesta ja ajallisesta dynamiikasta. Vaihtelusta huolimatta solulinja on edelleen tehokas väline monimutkaisten molekyylireittien tutkimiseen ja solujen toimintojen ymmärtämiseen syvemmällä tasolla.

Kudos	Munuaiset

Synonyymit

- NRK 4xlN22-3xmEGFP-M9

LUOKITTELU

Organismi	Rotta
Kasvuominaisuudet	Kiinnittynyt
Bioturvallisuustaso	1

OMINAISUUDET

Morfologia	Fibroblastin kaltaiset solut, joilla on fusiforminen muoto

TUNNISTEET

Lähdeviite

NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 (Cytionin luettelonumero 500672)

NCBI-verotunnus	10116
Cellosaurus	CVCL_AV97
Tallettaja	Ellenbergin laboratorio (EMBL)

ILMENTYMINEN JA ALTTIUS

Ilmentyvät reseptorit

Epiderminen kasvutekijä (EGF), lisääntymistä stimuloiva aktiivisuus (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

Proteiinin ilmentyminen

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

Tuotteet

M9-His-tag BsrG1/HindIII:n välissä, Neomysiini, fosfotransferaasi, CMV Promotor

KÄSITTELY JA VILJELY

Viljelyalusta

DMEM, w: 4,5 g/l glukoosia, w: 4 mM L-glutamiinia, w: 3,7 g/l NaHCO3, w: 1,0 mM natriumpyruvaattia (Cytionin artikkelinumero 820300a)

Inkubaatioilma	37 °C, 5 %CO2, kostutettu ilmakehä.

Ravintolisät

Täydennetään elatusainetta 10 % FBS:llä, 0,5 mg/ml G418:lla

Dissosiaatioreagenssi	Accutase

Soluviljely

Hävitä vanha väliaine ja pese solut PBS:llä. Lisätään tuore 0,025-prosenttinen trypsiini/0,02-prosenttinen EDTA-liuos, joka on lämmitetty 37 celsiusasteeseen, ja odotetaan, kunnes solut irtoavat, mikä kestää yleensä noin 5 minuuttia. Neutraloi trypsiini lisäämällä tuoretta elatusainetta, siirrä soluseos putkeen ja sentrifugoi. Sentrifugoinnin jälkeen poista supernatantti, suspendoi solupelletti uudelleen tuoreessa kasvatusmediassa ja siirrä suspensio uusiin pulloihin. Lisää G418:a elatusaineeseen, jotta saavutetaan 0,5 mg/ml:n lopullinen pitoisuus

Kylvötiheys	2–4 x 10^4 solua/cm^2
Nesteen uusiminen	2-3 kertaa viikossa

Sulatus ja viljely

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.

LAADUNVALVONTA JA KRYOSÄILYTYS

Hedelmättömyys

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.
Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.

Jäädytysaine	Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

Säilytysolosuhteet

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen typpeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen typpeen.

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

Toimitusehdot

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

LAHJOITTAJA

Rotua / alalajia	OsborneMendel

OIKEUDELLISET JA TURVALLISUUSASIAT

Turvallisuusohjeet

Kun suunnitellaan kryoputken säilyttämistä nestemäisessä typessä sulatusta varten, on noudatettava tiukkoja turvatoimenpiteitä. Asianmukaiset suojakäsineet ja -vaatteet ovat välttämättömiä, ja kasvonaamarin tai suojalasien käyttö on välttämätöntä siirrettäessä jäädytettyjä näytteitä nestetyppisäiliöön tai siitä pois. Tällä pyritään pienentämään loukkaantumisriskiä, joka aiheutuu kryoputkien mahdollisista räjähdyksistä, jotka voivat aiheuttaa terävien sirpaleiden sinkoutumisen.

Vastuuvapauslauseke

Solujamme tarjotaan yksinomaan in vitro -laboratoriotutkimustarkoituksiin, eikä niitä ole tarkoitettu kliiniseen tai diagnostiseen käyttöön, eikä niitä saa antaa ihmisille tai käyttää eläinlääkinnällisiin tarkoituksiin. Käyttäjien on noudatettava kaikkia sovellettavia ohjeita ja määräyksiä, jotka koskevat näiden solujen käsittelyä ja käyttöä tutkimusympäristössä.

Takuu

Me Cytionilla seisomme tuotteidemme laadun ja elinkelpoisuuden takana.
Takaamme, että solumme ovat elinkelpoisia viljelyn alkaessa 60 päivän ajan sen jälkeen, kun ne on lähetetty laitoksestamme.
Vakuutamme, että kaikki materiaalit ovat analyysitodistuksessa ja/tai tuoteselosteessa kuvattujen eritelmien mukaisia
Lisätietoja on <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""""x-default"">Takuulausumassa

Sovelletaan kolmansien osapuolten kanssa tehtyjä sopimuksia	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