NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9

500672

ÁLTALÁNOS INFORMÁCIÓK

Leírás

Az NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 sejtvonal egy klonális stabil sejtvonal, amely normál patkányvese (NRK) sejtekből származik egy körkörös plazmid transzfekciója révén. Ez a plazmid a lambda N22 RNS-kötőhelyek négy tandem ismétlődését és az M9 nukleáris lokalizációs jelével fuzionált mEGFP (monomerikus, fokozottan zöld fluoreszcens fehérje) címkék három tandem ismétlődését kódoló genetikai konstrukciókat tartalmaz. A transzfekciót követően a sejteket gyógyszerrezisztencia-szelekciónak vetettük alá a genetikai módosítások stabilitásának biztosítása érdekében.
Ebben a klonális stabil vonalban a sejtek körülbelül 50%-a expresszálja a 4xλN22-3xmEGFP-M9 fluoreszcens markert, ami a plazmid sikeres beépülését jelzi. E marker expressziója lehetővé teszi az intracelluláris folyamatok valós idejű vizualizálását, amit megkönnyít a mEGFP robusztus fluoreszcens jele. Az M9 nukleáris lokalizációs jel biztosítja, hogy az expresszált fúziós fehérjék a sejtmagba szállítódnak, így ez a sejtvonal különösen hasznos a nukleáris-citoplazmatikus transzport, az RNS-dinamika és a génexpresszió szabályozásának tanulmányozására.
Ez az NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 sejtvonal értékes az RNS-kötőfehérje kölcsönhatásokra, az RNS-metabolizmusra és a nukleáris import és export alapjául szolgáló mechanizmusokra összpontosító kutatók számára. A mEGFP marker jelenléte lehetővé teszi az olyan fejlett képalkotó technikákat, mint a konfokális mikroszkópia és az élő sejtek képalkotása, amelyek részletes betekintést nyújtanak a sejtkomponensek térbeli és időbeli dinamikájába. A változatosság ellenére a sejtvonal továbbra is hatékony eszköz a komplex molekuláris útvonalak feltárásához és a sejtfunkciók mélyebb szintű megértéséhez.

Szövet	Vese

Szinonimák

- NRK 4xlN22-3xmEGFP-M9

OSZTÁLYOZÁS

Organizmus	Patkány
Növekedési tulajdonságok	Hűséges
Biológiai biztonsági szint	1

JELLEMZŐK

Morfológia	Fibroblaszt-szerű, fusiform alakú sejtek

AZONOSÍTÓK

Hivatkozás

NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 (Cytion katalógusszám: 500672)

NCBI adóazonosító szám	10116
Cellosaurus	CVCL_AV97
Betétes	Az Ellenberg Labor (EMBL)

KIFEJEZŐDÉS ÉS FOGÉKONYSÁG

Kifejeződő receptorok

Epidermális növekedési faktor (EGF), szaporodást serkentő aktivitás (MSA)

Fehérjeexpresszió

4xλN22-3xmEGFP-M9: Hely/gén: 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

Termékek

M9-His tag a BsrG1/HindIII, Neomicin, foszfotranszferáz, CMV promotor között

KEZELÉS ÉS TENYÉSZTÉS

Táptalaj

DMEM, w: 4,5 g/L glükóz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM nátrium-piruvát (Cytion cikkszám 820300a)

Inkubációs környezet	37°C, 5%CO2, párásított légkör.

Kiegészítők

A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel, 0,5 mg/ml G418-zal

Diszociációs reagens	Accutase

Átültetés

Dobja ki a régi tápfolyadékot, és mossa ki a sejteket PBS-szel. Adjunk hozzá frissen készített 0,025%-os tripszin/0,02%-os EDTA oldatot 37 Celsius-fokra melegítve, és várjuk meg, amíg a sejtek leválnak, ami általában körülbelül 5 percig tart. Semlegesítse a tripszint friss tápfolyadék hozzáadásával, majd helyezze át a sejtkeveréket egy csőbe és centrifugálja. A centrifugálás után távolítsa el a felülúszót, reszuszpendálja a sejtpelletet friss táptalajban, és a szuszpenziót helyezze át új lombikba. Adjunk a táptalajhoz G418-at, hogy 0,5 mg/ml végkoncentrációt érjünk el

Ültetési sűrűség	2–4 x 10^4 sejt/cm^2
Folyadékcsere	hetente 2-3 alkalommal

Felolvasztás és tenyésztés

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.

MINŐSÉGELLENŐRZÉS ÉS KRIOKONZERVÁLÁS

Meddőség

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják. A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejtkultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.

Fagyasztóközeg	Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

Tárolási feltételek

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Szállítási feltételek

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

ADOMÁNYOZÓ

Faj / alfaj	OsborneMendel

JOGI ÉS BIZTONSÁGI INFORMÁCIÓK

Biztonsági óvintézkedések

Ha egy kriovialitást folyékony nitrogénben tervezünk tárolni a későbbi kiolvasztás céljából, akkor kötelező betartani a szigorú biztonsági intézkedéseket. A megfelelő védőkesztyű és védőruházat elengedhetetlen, és a fagyasztott minták folyékony nitrogéntartályba vagy a folyékony nitrogéntartályból történő átvitele során arcmaszk vagy védőszemüveg használata szükséges. Ez azért van, hogy csökkentsék a kriovialis anyagok eltávolításakor bekövetkező esetleges robbanásból eredő sérülésveszélyt, amely éles szilánkok kilövellését eredményezheti.

Jogi nyilatkozat

Sejtjeinket kizárólag in vitro laboratóriumi kutatási célokra bocsátjuk rendelkezésre, és nem szánjuk klinikai vagy diagnosztikai felhasználásra, nem adhatóak be embereknek, és nem használhatók fel állatorvosi célokra. A felhasználóknak be kell tartaniuk a sejtek kutatási környezetben történő kezelésére és felhasználására vonatkozó valamennyi vonatkozó irányelvet és előírást.

Garancia

A Cytionnál kiállunk termékeink minősége és életképessége mellett.
Garantáljuk, hogy sejtjeink a tenyésztés megkezdésekor életképesek lesznek, a létesítményünkből történő kiszállítás után 60 napig.
Biztosítjuk, hogy minden anyag megfelel az analitikai tanúsítványban és/vagy a terméklapon leírt specifikációknak
A teljes részleteket lásd <a href="""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang="""x-default"">Garancia nyilatkozatunkban

Harmadik felekkel kötött megállapodások érvényesek	Yes