NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9

500672

INFORMASI UMUM

Deskripsi

Garis sel NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 adalah garis sel stabil klonal yang berasal dari sel ginjal tikus normal (NRK) melalui transfeksi plasmid melingkar. Plasmid ini mengandung konstruksi genetik yang mengkodekan empat pengulangan tandem situs pengikatan RNA lambda N22 dan tiga pengulangan tandem tag mEGFP (protein fluoresen hijau yang disempurnakan secara monomerik) yang menyatu dengan sinyal lokalisasi nuklir M9. Pasca-transfeksi, sel menjalani seleksi resistensi obat untuk memastikan stabilitas modifikasi genetik. Sekitar 50% sel dalam garis stabil klonal ini mengekspresikan penanda fluoresen 4xλN22-3xmEGFP-M9, yang mengindikasikan keberhasilan penggabungan plasmid. Ekspresi penanda ini memungkinkan visualisasi proses intraseluler secara real-time, yang difasilitasi oleh sinyal fluoresen yang kuat dari mEGFP. Sinyal lokalisasi nuklir M9 memastikan bahwa protein fusi yang diekspresikan diangkut ke nukleus, membuat garis sel ini sangat berguna untuk mempelajari transpor nuklir-sitoplasma, dinamika RNA, dan regulasi ekspresi gen.
Garis sel NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 ini sangat berharga bagi para peneliti yang berfokus pada interaksi protein pengikat RNA, metabolisme RNA, dan mekanisme yang mendasari impor dan ekspor nuklir. Kehadiran penanda mEGFP memungkinkan teknik pencitraan canggih seperti mikroskop confocal dan pencitraan sel hidup, memberikan wawasan terperinci tentang dinamika spasial dan temporal komponen seluler. Terlepas dari keragamannya, garis sel tetap menjadi alat yang ampuh untuk membedah jalur molekuler yang kompleks dan memahami fungsi seluler pada tingkat yang lebih dalam.

Tisu	Ginjal

Sinonim

- NRK 4xlN22-3xmEGFP-M9

KLASIFIKASI

Organisme	Tikus
Sifat-sifat pertumbuhan	Pengikut
Tingkat keamanan hayati	1

KARAKTERISTIK

Morfologi	Sel mirip fibroblas dengan bentuk fusiform

PENGIDENTIFIKASI

Referensi

NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 (nomor katalog Cytion 500672)

Nomor Identifikasi Pajak NCBI	10116
Cellosaurus	CVCL_AV97
Nasabah penyimpanan	Laboratorium Ellenberg (Ellenberg Lab) (EMBL)

EKSPRESI DAN KERENTANAN

Reseptor yang diekspresikan

Faktor pertumbuhan epidermal (EGF), aktivitas stimulasi multiplikasi (MSA)

Ekspresi protein

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

Produk

M9-Tag antara BSRG1/HindIII, Neomisin, Fosfotransferase, Promotor CMV

PENANGANAN DAN BUDIDAYA

Media kultur

DMEM, w: 4,5 g/L Glukosa, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM Natrium piruvat (Nomor artikel Cytion 820300a)

Suasana inkubasi	37°C, 5%CO2, atmosfer yang dilembabkan.

Suplemen

Tambahkan media dengan 10% FBS, 0,5 mg/mL G418

Reagen disosiasi	Accutase

Perbanyakan sel

Buang media lama dan cuci sel dengan PBS. Tambahkan larutan tripsin 0,025% / 0,02% EDTA yang baru disiapkan yang dipanaskan hingga 37 derajat Celcius dan tunggu hingga sel terlepas, yang biasanya membutuhkan waktu sekitar 5 menit. Netralkan tripsin dengan menambahkan medium segar, lalu pindahkan campuran sel ke dalam tabung dan sentrifugasi. Setelah sentrifugasi, keluarkan supernatan, resuspensi pelet sel dalam media kultur segar, dan pindahkan suspensi ke labu baru. Masukkan G418 ke dalam media kultur untuk mencapai konsentrasi akhir 0,5 mg / ml

Kepadatan penanaman	2 hingga 4 x 10^4 sel/cm^2
Pergantian cairan	2 hingga 3 kali per minggu

Pencairan dan pembiakan

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.

PENGENDALIAN MUTU DAN KRIOPRESERVASI

Kemandulan

Kontaminasi mikoplasma disingkirkan dengan menggunakan tes berbasis PCR dan metode deteksi mikoplasma berbasis pendaran.
Untuk memastikan tidak ada kontaminasi bakteri, jamur, atau ragi, kultur sel menjalani inspeksi visual setiap hari.

Media pembekuan	Sebagai media kriopreservasi, kami menggunakan media pertumbuhan lengkap (termasuk FBS) + 10% DMSO untuk viabilitas pasca-pencairan yang memadai, atau CM-1 (nomor katalog Cytion 800100), yang mencakup osmoprotektan yang dioptimalkan dan penstabil metabolisme untuk meningkatkan pemulihan dan mengurangi stres yang diinduksi kriopreservasi.

Kondisi penyimpanan

Untuk pengawetan jangka panjang, tempatkan botol dalam nitrogen cair fase uap pada suhu sekitar -150 hingga -196 °C. Penyimpanan pada suhu -80 °C hanya dapat diterima sebagai langkah sementara sebelum dipindahkan ke nitrogen cair.

Ketentuan pengiriman

Lini sel kriopreservasi dikirim di atas es kering dalam kemasan terisolasi yang divalidasi dengan refrigeran yang cukup untuk mempertahankan suhu sekitar -78 ° C selama perjalanan. Setelah diterima, segera periksa wadah dan pindahkan botol tanpa penundaan ke tempat penyimpanan yang sesuai.

DONATUR

Jenis / subspesies	OsborneMendel

HUKUM DAN KESELAMATAN

Tindakan pencegahan keselamatan

Ketika berencana menyimpan kriovial dalam nitrogen cair untuk pencairan di masa mendatang, Anda wajib mematuhi langkah-langkah keamanan yang ketat. Sarung tangan dan pakaian pelindung yang tepat sangat penting, dan penggunaan masker wajah atau kacamata pengaman diperlukan selama pemindahan sampel beku ke atau dari tangki nitrogen cair. Hal ini untuk mengurangi risiko cedera akibat potensi ledakan cryovial pada saat pemindahan, yang dapat mengakibatkan proyeksi fragmen tajam.

Penafian

Sel-sel kami disediakan untuk tujuan penelitian laboratorium in vitro secara eksklusif dan tidak dimaksudkan untuk penggunaan klinis atau diagnostik, dan juga tidak untuk diberikan kepada manusia atau digunakan untuk tujuan kedokteran hewan. Pengguna harus mematuhi semua pedoman dan peraturan yang berlaku untuk penanganan dan penggunaan sel ini dalam lingkungan penelitian.

Garansi

Di Cytion, kami mendukung kualitas dan kelangsungan hidup produk kami.
Kami menjamin bahwa sel kami akan dapat bertahan hidup pada awal kultur selama 60 hari setelah pengiriman dari fasilitas kami.
Kami menjamin bahwa semua bahan sesuai dengan spesifikasi yang dijelaskan dalam Sertifikat Analisis dan / atau Lembar Produk
Untuk detail lengkap, silakan merujuk ke <a href=""/Siapa-kami-Garansi/Garansi/"" hreflang=""x-default"">Pernyataan Jaminan kami

Berlaku ketentuan perjanjian pihak ketiga	Yes