NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9

500672

INFORMAZIONI GENERALI

Descrizione

La linea cellulare NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 è una linea cellulare clonale stabile derivata da cellule di rene normale di ratto (NRK) attraverso la trasfezione di un plasmide circolare. Questo plasmide contiene costrutti genetici che codificano quattro ripetizioni in tandem dei siti di legame dell'RNA di lambda N22 e tre ripetizioni in tandem di tag mEGFP (monomeric enhanced green fluorescent protein) fusi con il segnale di localizzazione nucleare M9. Dopo la trasfezione, le cellule sono state sottoposte a selezione della resistenza ai farmaci per garantire la stabilità delle modifiche genetiche.
Circa il 50% delle cellule di questa linea clonale stabile esprime il marcatore fluorescente 4xλN22-3xmEGFP-M9, indicando il successo dell'incorporazione del plasmide. L'espressione di questo marcatore consente la visualizzazione in tempo reale dei processi intracellulari, facilitata dal robusto segnale fluorescente di mEGFP. Il segnale di localizzazione nucleare M9 assicura che le proteine di fusione espresse siano trasportate nel nucleo, rendendo questa linea cellulare particolarmente utile per lo studio del trasporto nucleare-citoplasmatico, della dinamica dell'RNA e della regolazione dell'espressione genica.
Questa linea cellulare NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 è preziosa per i ricercatori che si concentrano sulle interazioni tra proteine che legano l'RNA, sul metabolismo dell'RNA e sui meccanismi alla base dell'importazione e dell'esportazione nucleare. La presenza del marcatore mEGFP consente di utilizzare tecniche di imaging avanzate come la microscopia confocale e l'imaging di cellule vive, fornendo informazioni dettagliate sulle dinamiche spaziali e temporali dei componenti cellulari. Nonostante la variegatura, la linea cellulare rimane un potente strumento per la dissezione di complessi percorsi molecolari e la comprensione delle funzioni cellulari a un livello più profondo.

Tessuto	Rene

Sinonimi

- NRK 4xlN22-3xmEGFP-M9

CLASSIFICAZIONE

Organismo	Ratto
Proprietà di crescita	Aderente
Livello di biosicurezza	1

CARATTERISTICHE

Morfologia	Cellule simili a fibroblasti con forma fusiforme

IDENTIFICATORI

Riferimento bibliografico

NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 (numero di catalogo Cytion 500672)

Codice fiscale NCBI	10116
Cellosaurus	CVCL_AV97
Depositario	Il laboratorio Ellenberg (EMBL)

ESPRESSIONE E SUSCETTIBILITÀ

Recettori espressi

Fattore di crescita epidermico (EGF), attività stimolante la moltiplicazione (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

Espressione proteica

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

Prodotti

Tag M9-His tra BsrG1/HindIII, Neomicina, Fosfotransferasi, Promotore CMV

MANIPOLAZIONE E COLTURA

Terreno di coltura

DMEM, w: 4,5 g/L di glucosio, w: 4 mM di L-Glutammina, w: 3,7 g/L di NaHCO3, w: 1,0 mM di piruvato di sodio (articolo Cytion numero 820300a)

Atmosfera di incubazione	37°C, 5%CO2, atmosfera umidificata.

Integratori

Integrare il terreno di coltura con 10% FBS, 0,5 mg/mL G418

Reagente di dissociazione	Accutase

Subcoltura

Eliminare il vecchio terreno e lavare le cellule con PBS. Aggiungere una soluzione di tripsina 0,025%/0,02% EDTA appena preparata e riscaldata a 37 gradi Celsius e attendere che le cellule si stacchino, il che di solito richiede circa 5 minuti. Neutralizzare la tripsina aggiungendo terreno fresco, quindi trasferire la miscela di cellule in una provetta e centrifugare. Dopo la centrifugazione, rimuovere il surnatante, risospendere il pellet di cellule in terreno di coltura fresco e trasferire la sospensione in nuove fiasche. Incorporare G418 nel terreno di coltura per ottenere una concentrazione finale di 0,5 mg/ml

Densità di semina	Da 2 a 4 x 10^4 cellule/cm^2
Rinnovo dei fluidi	da 2 a 3 volte alla settimana

Scongelamento e coltura

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.

CONTROLLO DI QUALITÀ E CRIOCONSERVAZIONE

Sterilità

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.
Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.

Terreno di coltura congelato	Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelamento, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

Condizioni di conservazione

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Condizioni di spedizione

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

DONATORE

Razza / sottospecie	OsborneMendel

ASPETTI LEGALI E DI SICUREZZA

Misure di sicurezza

Quando si prevede di conservare una crioviale in azoto liquido per un futuro scongelamento, è obbligatorio attenersi a rigorose misure di sicurezza. Guanti e indumenti protettivi appropriati sono essenziali e l'uso di una maschera facciale o di occhiali di sicurezza è richiesto durante il trasferimento dei campioni congelati da o verso il serbatoio di azoto liquido. Questo per ridurre il rischio di lesioni dovute a potenziali esplosioni di crioviali al momento della rimozione, che possono provocare la proiezione di frammenti taglienti.

Dichiarazione di non responsabilità

Le nostre cellule sono fornite esclusivamente per scopi di ricerca di laboratorio in vitro e non sono destinate all'uso clinico o diagnostico, né devono essere somministrate all'uomo o utilizzate per scopi veterinari. Gli utenti devono attenersi a tutte le linee guida e le normative applicabili per la manipolazione e l'uso di queste cellule in un contesto di ricerca.

Garanzia

Noi di Cytion garantiamo la qualità e la vitalità dei nostri prodotti.
Garantiamo che le nostre cellule saranno vitali all'inizio della coltura per 60 giorni dopo la spedizione dai nostri stabilimenti.
Assicuriamo che tutti i materiali sono conformi alle specifiche descritte nel Certificato di Analisi e/o nella Scheda Prodotto
Per tutti i dettagli, consultare la nostra <a href=""/Chi-siamo/Garanzia/"" hreflang=""x-default"">Dichiarazione di Garanzia

Si applicano gli accordi con terze parti	Yes