NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9

500672

GENERELL INFORMASJON

Beskrivelse

NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9-cellelinjen er en klonal, stabil cellelinje som er avledet fra normale rottenyreceller (NRK) ved transfeksjon av et sirkulært plasmid. Dette plasmidet inneholder genetiske konstruksjoner som koder for fire tandemgjentakelser av lambda N22 RNA-bindingssteder og tre tandemgjentakelser av mEGFP (monomert forsterket grønt fluorescerende protein) som er fusjonert med M9 nukleærlokaliseringssignalet. Etter transfeksjonen ble cellene selektert for medikamentresistens for å sikre at de genetiske modifikasjonene var stabile.
Omtrent 50 % av cellene i denne stabile klonlinjen uttrykker den fluorescerende markøren 4xλN22-3xmEGFP-M9, noe som indikerer en vellykket inkorporering av plasmidet. Uttrykket av denne markøren gjør det mulig å visualisere intracellulære prosesser i sanntid, takket være det robuste fluorescerende signalet fra mEGFP. M9-signalet for nukleær lokalisering sikrer at de uttrykte fusjonsproteinene transporteres til kjernen, noe som gjør denne cellelinjen spesielt nyttig for studier av nukleær-cytoplasmatisk transport, RNA-dynamikk og regulering av genuttrykk.
Denne NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9-cellelinjen er verdifull for forskere som fokuserer på RNA-bindende proteininteraksjoner, RNA-metabolisme og mekanismene som ligger til grunn for kjerneimport og -eksport. Tilstedeværelsen av mEGFP-markøren muliggjør avanserte avbildningsteknikker som konfokalmikroskopi og avbildning av levende celler, noe som gir detaljert innsikt i den romlige og tidsmessige dynamikken til cellulære komponenter. Til tross for variasjonen er cellelinjen fortsatt et kraftig verktøy for å dissekere komplekse molekylære veier og forstå cellulære funksjoner på et dypere nivå.

Vev	Nyre

Synonymer

- NRK 4xlN22-3xmEGFP-M9

KLASSIFISERING

Organisme	Rotte
Vekstegenskaper	Tilhenger
Biosikkerhetsnivå	1

EGENSKAPER

Morfologi	Fibroblastlignende celler med fusiform form

IDENTIFIKATORER

Kildehenvisning

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

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

UTTRYKK OG MOTTAKELIGHET

Reseptorer som uttrykkes

Epidermal vekstfaktor (EGF), multiplikasjonsstimulerende aktivitet (MSA)

Proteinekspresjon

4xλN22-3xmEGFP-M9: Beliggenhet/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 mellom BsrG1/HindIII, neomycin, fosfotransferase, CMV-promotor

HÅNDTERING OG KULTUR

Næringsmedium

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

Inkubasjonsatmosfære	37 °C, 5 %CO2, befuktet atmosfære.

Kosttilskudd

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

Dissosiasjonsmiddel	Accutase

Subkultivering

Kast det gamle mediet, og vask cellene med PBS. Tilsett en nytilberedt 0,025 % trypsin/0,02 % EDTA-løsning oppvarmet til 37 grader Celsius, og vent til cellene løsner, noe som vanligvis tar ca. 5 minutter. Nøytraliser trypsinet ved å tilsette nytt medium, og overfør deretter celleblandingen til et rør og sentrifuger. Etter sentrifugering fjerner du supernatanten, resuspenderer cellepelleten i nytt dyrkingsmedium og overfører suspensjonen til nye kolber. Tilsett G418 i dyrkningsmediet for å oppnå en sluttkonsentrasjon på 0,5 mg/ml

Såtetthet	2 til 4 x 10^4 celler/cm^2
Væskefornyelse	2 til 3 ganger per uke

Tining og dyrking

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.

KVALITETSKONTROLL OG KRYOKONSERVERING

Sterilitet

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.
For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.

Frysemedium	Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoindusert stress.

Oppbevaringsbetingelser

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Fraktvilkår

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

DONOR

Rase / underart	OsborneMendel

JURIDISK OG SIKKERHET

Sikkerhetsregler

Når du planlegger å oppbevare et kryovial i flytende nitrogen for senere tining, er det obligatorisk å følge strenge sikkerhetstiltak. Det er viktig å bruke egnede vernehansker og -klær, og det er påbudt å bruke ansiktsmaske eller vernebriller under overføring av frosne prøver til eller fra tanken med flytende nitrogen. Dette er for å redusere risikoen for skader som følge av potensielle kryovæskeeksplosjoner ved fjerning, noe som kan føre til at skarpe fragmenter slynges ut.

Ansvarsfraskrivelse

Cellene våre leveres utelukkende til in vitro-laboratorieforskningsformål og er ikke ment for klinisk eller diagnostisk bruk, og de skal heller ikke administreres til mennesker eller brukes til veterinærformål. Brukere må overholde alle gjeldende retningslinjer og forskrifter for håndtering og bruk av disse cellene i forskningssammenheng.

Garanti

Hos Cytion står vi bak kvaliteten og levedyktigheten til produktene våre.
Vi garanterer at cellene våre vil være levedyktige ved starten av dyrkingen i 60 dager etter at de er sendt fra våre anlegg.
Vi forsikrer at alle materialer er i samsvar med spesifikasjonene som er beskrevet i analysesertifikatet og/eller produktarket
For fullstendig informasjon, se vår <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Garantierklæring

Avtaler med tredjeparter gjelder	Yes