NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9

500672

ALGEMENE INFORMATIE

Beschrijving

De NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 cellijn is een klonale stabiele cellijn afgeleid van normale rattenniercellen (NRK) door transfectie van een circulair plasmide. Dit plasmide bevat genetische constructen die coderen voor vier tandemherhalingen van lambda N22 RNA-bindingsplaatsen en drie tandemherhalingen van mEGFP-tags (monomeer versterkt groen fluorescerend eiwit), gefuseerd met het M9 nucleair lokalisatiesignaal. Na de transfectie werden de cellen geselecteerd op resistentie tegen geneesmiddelen om de stabiliteit van de genetische modificaties te garanderen.
Ongeveer 50% van de cellen in deze stabiele klonale lijn brengen de fluorescente marker 4xλN22-3xmEGFP-M9 tot expressie, wat duidt op een succesvolle incorporatie van het plasmide. De expressie van deze marker maakt real-time visualisatie van intracellulaire processen mogelijk, vergemakkelijkt door het robuuste fluorescentiesignaal van mEGFP. Het M9 nucleaire lokalisatiesignaal zorgt ervoor dat de uitgedrukte fusie-eiwitten naar de kern worden getransporteerd, waardoor deze cellijn bijzonder nuttig is voor het bestuderen van nucleair-cytoplasmatisch transport, RNA-dynamica en genexpressieregulatie.
Deze NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 cellijn is waardevol voor onderzoekers die zich richten op RNA-bindende eiwitinteracties, RNA-metabolisme en de mechanismen die ten grondslag liggen aan nucleaire import en export. De aanwezigheid van de mEGFP-marker maakt geavanceerde beeldvormingstechnieken zoals confocale microscopie en live-cell imaging mogelijk, wat gedetailleerde inzichten geeft in de ruimtelijke en temporele dynamiek van cellulaire componenten. Ondanks de variatie blijft de cellijn een krachtig hulpmiddel om complexe moleculaire routes te ontleden en cellulaire functies op een dieper niveau te begrijpen.

Weefsel	Nieren

Synoniemen

- NRK 4xlN22-3xmEGFP-M9

CLASSIFICATIE

Organisme	Rat
Groei-eigenschappen	Aanhanger
Bioveiligheidsniveau	1

KENMERKEN

Morfologie	Fibroblast-achtige cellen met spoelvormige vorm

IDENTIFICATIEGEGEVENS

Bronvermelding

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

NCBI-belastingnummer	10116
Cellosaurus	CVCL_AV97
Inlegger	Het Ellenberg Lab (EMBL)

EXPRESSIE EN VATBAARHEID

Tot expressie gebrachte receptoren

Epidermale groeifactor (EGF), vermeerderingsstimulerende activiteit (MSA)

Eiwit-expressie

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

Producten

M9-His tag tussen BsrG1/HindIII, neomycine, fosfotransferase, CMV Promotor

BEHANDELING EN KWEEK

Kweekmedium

DMEM, w: 4,5 g/L Glucose, w: 4 mM L-Glutamine, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM Natriumpyruvaat (Cytion artikelnummer 820300a)

Incubatieomgeving	37°C, 5%CO2, bevochtigde atmosfeer.

Supplementen

Vul het medium aan met 10% FBS, 0,5 mg/mL G418

Dissociatiereagens	Accutase

Heruitplanten

Gooi het oude medium weg en was de cellen met PBS. Voeg een vers bereide 0,025% trypsine/0,02% EDTA-oplossing verwarmd tot 37 graden Celsius toe en wacht tot de cellen loskomen, wat meestal ongeveer 5 minuten duurt. Neutraliseer de trypsine door vers medium toe te voegen, breng het celmengsel over naar een buis en centrifugeer. Verwijder na het centrifugeren het supernatant, resuspendeer de celpellet in vers kweekmedium en breng de suspensie over naar nieuwe kolven. Voeg G418 toe aan het kweekmedium om een eindconcentratie van 0,5 mg/ml te bereiken

Zaaidichtheid	2 tot 4 x 10^4 cellen/cm^2
Vloeistofverversing	2 tot 3 keer per week

Ontdooien en kweken

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.

KWALITEITSCONTROLE EN CRYOPRESERVATIE

Onvruchtbaarheid

Mycoplasmaverontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasmadetectiemethoden.
Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.

Kweekmedium invriezen	Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedium (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

Opslagvoorwaarden

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Verzendvoorwaarden

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

DONATEUR

Soort / ondersoort	OsborneMendel

JURIDISCHE EN VEILIGHEIDSASPECTEN

Veiligheidsmaatregelen

Wanneer men van plan is om een cryovial in vloeibare stikstof op te slaan om later te ontdooien, is het verplicht om strenge veiligheidsmaatregelen in acht te nemen. Passende beschermende handschoenen en kleding zijn essentieel en het gebruik van een gezichtsmasker of veiligheidsbril is vereist tijdens het overbrengen van bevroren monsters naar of uit de tank met vloeibare stikstof. Dit is om het risico op letsel door mogelijke cryoviale explosies bij het verwijderen te beperken, wat kan resulteren in de projectie van scherpe fragmenten.

Disclaimer

Onze cellen worden uitsluitend geleverd voor in vitro laboratoriumonderzoek en zijn niet bedoeld voor klinisch of diagnostisch gebruik, noch mogen ze worden toegediend aan mensen of worden gebruikt voor veterinaire doeleinden. Gebruikers moeten zich houden aan alle toepasselijke richtlijnen en voorschriften voor het hanteren en gebruiken van deze cellen in een onderzoeksomgeving.

Garantie

Bij Cytion staan we achter de kwaliteit en levensvatbaarheid van onze producten.
We garanderen dat onze cellen levensvatbaar zijn bij het begin van de kweek gedurende 60 dagen na verzending vanuit onze faciliteiten.
We verzekeren dat alle materialen voldoen aan de specificaties beschreven in het analysecertificaat en/of productblad
Raadpleeg voor volledige informatie onze <a href=""/Wie-zijn-wij/Garantie/"" hreflang=""x-default"">Garantieverklaring

Er gelden overeenkomsten met derden	Yes