NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9

500672

INFORMACJE OGÓLNE

Opis

Linia komórkowa NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 jest klonalną, stabilną linią komórkową uzyskaną z normalnych komórek nerki szczura (NRK) poprzez transfekcję kolistego plazmidu. Plazmid ten zawiera konstrukty genetyczne kodujące cztery tandemowe powtórzenia miejsc wiązania RNA lambda N22 i trzy tandemowe powtórzenia znaczników mEGFP (monomeryczne wzmocnione zielone białko fluorescencyjne) połączone z sygnałem lokalizacji jądrowej M9. Po transfekcji komórki poddano selekcji odporności na leki, aby zapewnić stabilność modyfikacji genetycznych.
Około 50% komórek w tej stabilnej linii klonalnej wykazuje ekspresję markera fluorescencyjnego 4xλN22-3xmEGFP-M9, co wskazuje na udaną inkorporację plazmidu. Ekspresja tego markera pozwala na wizualizację procesów wewnątrzkomórkowych w czasie rzeczywistym, ułatwioną przez silny sygnał fluorescencyjny mEGFP. Sygnał lokalizacji jądrowej M9 zapewnia, że wyrażone białka fuzyjne są transportowane do jądra, dzięki czemu ta linia komórkowa jest szczególnie przydatna do badania transportu jądrowo-cytoplazmatycznego, dynamiki RNA i regulacji ekspresji genów.
Ta linia komórkowa NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 jest cenna dla badaczy koncentrujących się na interakcjach białek wiążących RNA, metabolizmie RNA oraz mechanizmach leżących u podstaw importu i eksportu jądrowego. Obecność markera mEGFP umożliwia zaawansowane techniki obrazowania, takie jak mikroskopia konfokalna i obrazowanie żywych komórek, zapewniając szczegółowy wgląd w przestrzenną i czasową dynamikę składników komórkowych. Pomimo zróżnicowania, linia komórkowa pozostaje potężnym narzędziem do badania złożonych szlaków molekularnych i zrozumienia funkcji komórkowych na głębszym poziomie.

Chusteczka	Nerka

Synonimy

- NRK 4xlN22-3xmEGFP-M9

KLASYFIKACJA

Organizm	Szczur
Właściwości związane ze wzrostem	Zwolennik
Poziom bezpieczeństwa biologicznego	1

CECHY CHARAKTERYSTYCZNE

Morfologia	Komórki podobne do fibroblastów o wrzecionowatym kształcie

IDENTYFIKATORY

Źródło

NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 (numer katalogowy Cytion 500672)

Numer identyfikacji podatkowej NCBI	10116
Cellosaurus	CVCL_AV97
Wkładca	Laboratorium Ellenberg (EMBL)

EKSPRESJA I PODATNOŚĆ

Receptory ulegające ekspresji

Epidermalny czynnik wzrostu (EGF), aktywność stymulująca namnażanie (MSA)

Ekspresja białek

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

Produkty

Znacznik M9-His między BsrG1/HindIII, neomycyna, fosfotransferaza, promotor CMV

POSTĘPOWANIE I HODOWLA

Pożywka hodowlana

DMEM, w: 4,5 g/l glukozy, w: 4 mM L-glutaminy, w: 3,7 g/l NaHCO3, w: 1,0 mM pirogronianu sodu (numer artykułu Cytion 820300a)

Atmosfera inkubacyjna	37°C, 5%CO2, nawilżona atmosfera.

Suplementy

Uzupełnić podłoże 10% FBS, 0,5 mg/ml G418

Odczynnik dysocjacyjny	Accutase

Hodowla komórek w subkulturze

Wyrzucić starą pożywkę i przepłukać komórki PBS. Dodaj świeżo przygotowany 0,025% roztwór trypsyny/0,02% EDTA podgrzany do 37 stopni Celsjusza i poczekaj, aż komórki się odłączą, co zwykle zajmuje około 5 minut. Zneutralizować trypsynę przez dodanie świeżej pożywki, a następnie przenieść mieszaninę komórek do probówki i odwirować. Po odwirowaniu usunąć supernatant, ponownie zawiesić osad komórkowy w świeżej pożywce i przenieść zawiesinę do nowych kolb. Dodać G418 do podłoża hodowlanego, aby osiągnąć końcowe stężenie 0,5 mg/ml

Gęstość wysiewu	2 do 4 x 10^4 komórek/cm^2
Odnawianie płynów	2 do 3 razy w tygodniu

Rozmrażanie i hodowla

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.

KONTROLA JAKOŚCI I KRIOKONSERWACJA

Bezpłodność

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.
Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

Pożywka do zamrażania	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Warunki przechowywania

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Warunki wysyłki

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

DARCZYŃCA

Rasa / podgatunek	OsborneMendel

KWESTIE PRAWNE I BEZPIECZEŃSTWO

Środki bezpieczeństwa

Planując przechowywanie kriofiolek w ciekłym azocie w celu ich późniejszego rozmrożenia, należy bezwzględnie przestrzegać rygorystycznych środków bezpieczeństwa. Niezbędne są odpowiednie rękawice i odzież ochronna, a podczas przenoszenia zamrożonych próbek do lub ze zbiornika z ciekłym azotem wymagane jest stosowanie maski lub okularów ochronnych. Ma to na celu zmniejszenie ryzyka obrażeń spowodowanych potencjalnymi eksplozjami kriowialu podczas wyjmowania, które mogą skutkować wyrzuceniem ostrych fragmentów.

Zastrzeżenie

Nasze komórki są dostarczane wyłącznie do celów badań laboratoryjnych in vitro i nie są przeznaczone do użytku klinicznego lub diagnostycznego, nie mogą być podawane ludziom ani wykorzystywane do celów weterynaryjnych. Użytkownicy muszą przestrzegać wszystkich obowiązujących wytycznych i przepisów dotyczących obchodzenia się z tymi komórkami i korzystania z nich w środowisku badawczym.

Gwarancja

W Cytion gwarantujemy jakość i żywotność naszych produktów.
Gwarantujemy, że nasze komórki będą żywotne na początku hodowli przez 60 dni po wysyłce z naszych zakładów.
Zapewniamy, że wszystkie materiały są zgodne ze specyfikacjami opisanymi w certyfikacie analizy i/lub karcie produktu
Szczegółowe informacje można znaleźć w naszej <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Oświadczeniu gwarancyjnym

Obowiązują umowy z podmiotami zewnętrznymi	Yes