NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9

500672

ALLMÄN INFORMATION

Beskrivning

Cellinjen NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 är en klonal stabil cellinje som härrör från normala råttnjurceller (NRK) genom transfektion av en cirkulär plasmid. Denna plasmid innehåller genetiska konstruktioner som kodar för fyra tandemrepetitioner av lambda N22 RNA-bindningsställen och tre tandemrepetitioner av mEGFP (monomeric enhanced green fluorescent protein) taggar fusionerade med M9 kärnlokaliseringssignal. Efter transfektion genomgick cellerna selektion för läkemedelsresistens för att säkerställa stabiliteten hos de genetiska modifieringarna.
Cirka 50% av cellerna i denna klonala stabila linje uttrycker den fluorescerande markören 4xλN22-3xmEGFP-M9, vilket indikerar en framgångsrik inkorporering av plasmiden. Uttrycket av denna markör möjliggör visualisering i realtid av intracellulära processer, vilket underlättas av den robusta fluorescerande signalen från mEGFP. M9-signalen för nukleär lokalisering säkerställer att de uttryckta fusionsproteinerna transporteras till kärnan, vilket gör denna cellinje särskilt användbar för studier av nukleär-cytoplasmisk transport, RNA-dynamik och reglering av genuttryck.
Denna NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9-cellinje är värdefull för forskare som fokuserar på interaktioner mellan RNA-bindande proteiner, RNA-metabolism och de mekanismer som ligger bakom import och export till kärnan. Närvaron av mEGFP-markören möjliggör avancerade avbildningstekniker som konfokalmikroskopi och avbildning av levande celler, vilket ger detaljerade insikter i den rumsliga och tidsmässiga dynamiken hos cellkomponenter. Trots brokigheten är cellinjen fortfarande ett kraftfullt verktyg för att dissekera komplexa molekylära vägar och förstå cellfunktioner på en djupare nivå.

Vävnad	Njurar

Synonymer

- NRK 4xlN22-3xmEGFP-M9

KLASSIFICERING

Organism	Råtta
Tillväxtegenskaper	Följsam
Biosäkerhetsnivå	1

EGENSKAPER

Morfologi	Fibroblastliknande celler med fusiform form

IDENTIFIERARE

Källa

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

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

UTTRYCK OCH MOTTAGLIGHET

Receptorer som uttrycks

Epidermal tillväxtfaktor (EGF), multiplikationsstimulerande aktivitet (MSA)

Proteinexpression

4xλN22-3xmEGFP-M9: Plats/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 tagg mellan BsrG1/HindIII, Neomycin, Fosfotransferas, CMV Promotor

HANTERING OCH ODLING

Odlingsmedium

DMEM, w: 4,5 g/L glukos, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)

Inkubationsatmosfär	37°C, 5%CO2, befuktad atmosfär.

Kosttillskott

Komplettera mediet med 10% FBS, 0,5 mg/ml G418

Dissociationsmedel	Accutase

Vidareodling

Kassera det gamla mediet och tvätta cellerna med PBS. Tillsätt en nyberedd 0,025% trypsin/0,02% EDTA-lösning som värmts upp till 37 grader Celsius och vänta tills cellerna lossnar, vilket vanligtvis tar cirka 5 minuter. Neutralisera trypsinet genom att tillsätta färskt medium, överför sedan cellblandningen till ett rör och centrifugera. Efter centrifugeringen avlägsnas supernatanten, cellpelleten resuspenderas i färskt odlingsmedium och suspensionen överförs till nya kolvar. Tillsätt G418 i odlingsmediet för att uppnå en slutlig koncentration på 0,5 mg/ml

Såtäthet	2 till 4 x 10^4 celler/cm^2
Vätskeförnyelse	2 till 3 gånger per vecka

Upptining och odling

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 OCH KRYOKONSERVERING

Sterilitet

Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik. För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.

Frysmedel	Som kryokonserveringsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

Förvaringsförhållanden

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Leveransvillkor

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

DONATOR

Ras / underart	OsborneMendel

JURIDISKA FRÅGOR OCH SÄKERHET

Säkerhetsföreskrifter

När man planerar att förvara en kryovial i flytande kväve för framtida upptining är det obligatoriskt att följa strikta säkerhetsåtgärder. Lämpliga skyddshandskar och skyddskläder är nödvändiga, och ansiktsmask eller skyddsglasögon måste användas vid överföring av frysta prover till eller från tanken med flytande kväve. Detta för att minska risken för skador på grund av eventuella explosioner i frysbehållaren vid borttagning, vilket kan leda till att vassa fragment projiceras.

Ansvarsfriskrivning

Våra celler tillhandahålls uteslutande för in vitro-laboratorieforskning och är inte avsedda för klinisk eller diagnostisk användning, och de ska inte heller administreras till människor eller användas för veterinära ändamål. Användare måste följa alla tillämpliga riktlinjer och föreskrifter för hantering och användning av dessa celler i en forskningsmiljö.

Garanti

På Cytion står vi bakom våra produkters kvalitet och livskraft.
Vi garanterar att våra celler är livsdugliga vid odlingens början i 60 dagar efter leverans från våra anläggningar.
Vi försäkrar att allt material överensstämmer med de specifikationer som beskrivs i analyscertifikatet och/eller produktbladet
För fullständig information, se vår <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Garantiförklaring

Avtal med tredje part gäller	Yes