NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9

500672

GENEL BILGILER

Açıklama

NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 hücre hattı, dairesel bir plazmidin transfeksiyonu yoluyla normal sıçan böbrek (NRK) hücrelerinden türetilen klonal stabil bir hücre hattıdır. Bu plazmid, lambda N22 RNA bağlama bölgelerinin dört tandem tekrarını ve M9 nükleer lokalizasyon sinyali ile kaynaşmış mEGFP (monomerik geliştirilmiş yeşil floresan protein) etiketlerinin üç tandem tekrarını kodlayan genetik yapılar içerir. Transfeksiyon sonrası, genetik modifikasyonların stabilitesini sağlamak için hücreler ilaç direnci seçimine tabi tutulmuştur.
Bu klonal stabil hattaki hücrelerin yaklaşık %50'si floresan işaretleyici 4xλN22-3xmEGFP-M9'u ifade ederek plazmidin başarılı bir şekilde dahil edildiğini göstermektedir. Bu işaretleyicinin ifadesi, mEGFP'nin güçlü floresan sinyali ile kolaylaştırılan hücre içi süreçlerin gerçek zamanlı olarak görselleştirilmesine olanak tanır. M9 nükleer lokalizasyon sinyali, eksprese edilen füzyon proteinlerinin çekirdeğe taşınmasını sağlayarak bu hücre hattını nükleer-sitoplazmik taşıma, RNA dinamikleri ve gen ekspresyonu düzenlemesini incelemek için özellikle kullanışlı hale getirir.
Bu NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 hücre hattı, RNA-bağlayıcı protein etkileşimleri, RNA metabolizması ve nükleer ithalat ve ihracatın altında yatan mekanizmalara odaklanan araştırmacılar için değerlidir. MEGFP işaretleyicisinin varlığı, konfokal mikroskopi ve canlı hücre görüntüleme gibi gelişmiş görüntüleme tekniklerini mümkün kılarak hücresel bileşenlerin uzamsal ve zamansal dinamikleri hakkında ayrıntılı bilgiler sağlar. Renk değişimine rağmen, hücre hattı karmaşık moleküler yolakları incelemek ve hücresel işlevleri daha derin bir düzeyde anlamak için güçlü bir araç olmaya devam etmektedir.

Doku	Böbrek

Eş anlamlılar

- NRK 4xlN22-3xmEGFP-M9

SINIFLANDIRMA

Canlı	Sıçan
Büyüme özellikleri	Bağlı
Biyogüvenlik seviyesi	1

ÖZELLIKLER

Morfoloji	Fusiform şekilli fibroblast benzeri hücreler

TANIMLAYICILAR

Kaynak gösterimi

NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 (Cytion katalog numarası 500672)

NCBI Vergi Kimlik Numarası	10116
Cellosaurus	CVCL_AV97
Mevduat sahibi	Ellenberg Laboratuvarı (EMBL)

İFADE VE DUYARLILIK

Eksprese edilen reseptörler

Epidermal büyüme faktörü (EGF), çoğalmayı uyarıcı aktivite (MSA)

Protein ekspresyonu

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

Ürünler

BsrG1/HindIII arasında M9-His etiketi, Neomisin, Fosfotransferaz, CMV Promotor

İŞLEME VE YETIŞTIRME

Besiyeri

DMEM, w: 4,5 g/L Glukoz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM Sodyum piruvat (Cytion ürün numarası 820300a)

Kuluçka ortamı	37°C, %5CO2, nemlendirilmiş atmosfer.

Takviyeler

Ortamı %10 FBS, 0,5 mg/mL G418 ile takviye edin

Ayrıştırma reaktifi	Accutase

Alt kültür oluşturma

Eski ortamı atın ve hücreleri PBS ile yıkayın. Taze hazırlanmış %0,025 tripsin/%0,02 EDTA çözeltisini 37 santigrat dereceye ısıtarak ekleyin ve hücreler ayrılana kadar bekleyin; bu süre genellikle yaklaşık 5 dakika sürer. Taze besiyeri ekleyerek tripsini nötralize edin, ardından hücre karışımını bir tüpe aktarın ve santrifüjleyin. Santrifüjden sonra süpernatantı çıkarın, hücre peletini taze kültür ortamında yeniden süspanse edin ve süspansiyonu yeni şişelere aktarın. 0,5 mg/ml nihai konsantrasyon elde etmek için kültür ortamına G418 ekleyin

Ekim yoğunluğu	2 ila 4 x 10^4 hücre/cm^2
Sıvı değişimi	haftada 2 ila 3 kez

Çözme ve kültürleme

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.

KALITE KONTROL VE KRIYOPREZERVASYON

Kısırlık

Mikoplazma kontaminasyonu hem PCR tabanlı tahliller hem de lüminesans tabanlı mikoplazma tespit yöntemleri kullanılarak dışlanır. Bakteriyel, fungal veya maya kontaminasyonu olmadığından emin olmak için hücre kültürleri günlük görsel incelemelere tabi tutulur.

Dondurma ortamı	Kriyoprezervasyon ortamı olarak, yeterli çözülme sonrası canlılık için tam büyüme ortamı (FBS dahil) + %10 DMSO veya iyileşmeyi artırmak ve kriyo-indüklenmiş stresi azaltmak için optimize edilmiş ozmoprotektanlar ve metabolik stabilizatörler içeren CM-1 (Cytion katalog numarası 800100) kullanıyoruz.

Saklama koşulları

Uzun süreli muhafaza için flakonları yaklaşık -150 ila -196 °C'de buhar fazlı sıvı nitrojen içine yerleştirin. 80 °C'de saklama yalnızca sıvı nitrojene aktarılmadan önce kısa bir ara adım olarak kabul edilebilir.

Nakliye koşulları

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

BAĞIŞÇI

Tür / alt tür	OsborneMendel

YASAL VE GÜVENLIK

Güvenlik önlemleri

İleride çözdürmek üzere sıvı nitrojen içinde bir kriyoviyal saklamayı planlarken, sıkı güvenlik önlemlerine uymak zorunludur. Uygun koruyucu eldivenler ve giysiler şarttır ve dondurulmuş numunelerin sıvı nitrojen tankına veya tanktan transferi sırasında yüz maskesi veya koruyucu gözlük kullanılması gerekir. Bu, çıkarma sırasında keskin parçaların fırlamasına neden olabilecek potansiyel kriyoviyal patlamalardan kaynaklanan yaralanma riskini azaltmak içindir.

Yasal Uyarı

Hücrelerimiz yalnızca in vitro laboratuvar araştırma amaçları için sağlanmıştır ve klinik veya tanısal kullanım için tasarlanmamıştır, insanlara uygulanmayacak veya veterinerlik amaçları için kullanılmayacaktır. Kullanıcılar, bu hücrelerin bir araştırma ortamında işlenmesi ve kullanılmasına yönelik tüm geçerli yönergelere ve düzenlemelere uymalıdır.

Garanti

Cytion olarak ürünlerimizin kalitesinin ve canlılığının arkasındayız.
Hücrelerimizin, tesislerimizden sevkiyattan sonra 60 gün boyunca kültürün başlangıcında canlı olacağını garanti ediyoruz.
Tüm malzemelerin Analiz Sertifikası ve/veya Ürün Sayfasında açıklanan özelliklere uygun olduğunu garanti ediyoruz
Tüm ayrıntılar için lütfen <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Garanti Beyanımıza bakın

Üçüncü taraf sözleşmeleri geçerlidir	Yes