NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9

500672

GENERAL INFORMATION

Description

Dòng tế bào NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 là một dòng tế bào ổn định được tạo ra từ tế bào thận bình thường của chuột (NRK) thông qua quá trình chuyển gen bằng plasmid tròn. Plasmid này chứa các cấu trúc gen mã hóa bốn đoạn lặp lại liên tiếp của vùng liên kết RNA lambda N22 và ba đoạn lặp lại liên tiếp của thẻ mEGFP (protein huỳnh quang xanh lá cây tăng cường dạng đơn phân) được gắn với tín hiệu định vị nhân M9. Sau quá trình chuyển gen, các tế bào được chọn lọc kháng thuốc để đảm bảo tính ổn định của các sửa đổi gen.
Khoảng 50% tế bào trong dòng tế bào ổn định này biểu hiện dấu hiệu huỳnh quang 4xλN22-3xmEGFP-M9, cho thấy việc tích hợp plasmid thành công. Việc biểu hiện dấu hiệu này cho phép quan sát trực tiếp các quá trình nội bào, nhờ vào tín hiệu huỳnh quang mạnh mẽ của mEGFP. Dấu hiệu định vị nhân M9 đảm bảo rằng các protein liên hợp được biểu hiện được vận chuyển đến nhân, khiến dòng tế bào này đặc biệt hữu ích cho việc nghiên cứu vận chuyển nhân-chất tế bào, động học RNA và điều hòa biểu hiện gen.
Dòng tế bào NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 này có giá trị đối với các nhà nghiên cứu tập trung vào tương tác của protein liên kết RNA, chuyển hóa RNA và các cơ chế cơ bản của vận chuyển vào và ra khỏi nhân. Sự hiện diện của dấu hiệu mEGFP cho phép sử dụng các kỹ thuật hình ảnh tiên tiến như kính hiển vi confocal và hình ảnh tế bào sống, cung cấp cái nhìn chi tiết về động học không gian và thời gian của các thành phần tế bào. Mặc dù có sự đa dạng về hình thái, dòng tế bào này vẫn là công cụ mạnh mẽ để phân tích các con đường phân tử phức tạp và hiểu rõ hơn về chức năng tế bào ở mức độ sâu hơn.

Tissue	Thận

Synonyms

- NRK 4xlN22-3xmEGFP-M9

CLASSIFICATION

Organism	Rat
Growth properties	Adherent
Biosafety level	1

CHARACTERISTICS

Morphology	Tế bào giống fibroblast có hình dạng fusiform

IDENTIFIERS

Citation

NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 (Số catalog Cytion 500672)

NCBI TaxID	10116
Cellosaurus	CVCL_AV97
Depositor	Phòng thí nghiệm Ellenberg (EMBL)

EXPRESSION AND SUSCEPTIBILITY

Receptors expressed

Yếu tố tăng trưởng biểu bì (EGF), hoạt tính kích thích nhân lên (MSA)

Protein expression

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

Products

Thẻ M9-His nằm giữa BsrG1/HindIII, Neomycin, Phosphotransferase, Promotor CMV

HANDLING AND CULTURE

Culture medium

DMEM, chứa: 4,5 g/L glucose, chứa: 4 mM L-glutamine, chứa: 3,7 g/L $NaHCO_3$, chứa: 1,0 mM natri pyruvate (số hiệu sản phẩm Cytion 820300a)

Incubation atmosphere	37°C, 5%CO_2, môi trường ẩm.

Supplements

Bổ sung vào môi trường nuôi cấy 10% huyết thanh bò phôi (FBS) và 0,5 mg/mL G418

Dissociation reagent	Accutase

Subculturing

Loại bỏ môi trường cũ và rửa tế bào bằng PBS. Thêm dung dịch trypsin 0,025%/EDTA 0,02% mới pha, đã được làm nóng đến 37 độ Celsius, và chờ cho đến khi tế bào tách ra, thường mất khoảng 5 phút. Trung hòa trypsin bằng cách thêm môi trường tươi, sau đó chuyển hỗn hợp tế bào vào ống và ly tâm. Sau khi ly tâm, loại bỏ dịch trên, tái phân tán cặn tế bào trong môi trường nuôi cấy tươi và chuyển hỗn hợp vào bình mới. Thêm G418 vào môi trường nuôi cấy để đạt nồng độ cuối cùng 0,5 mg/ml

Seeding density	2 đến 4 × 10^4 tế bào/cm^2
Fluid renewal	2 đến 3 lần mỗi tuần

Thawing and culturing

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.

QUALITY CONTROL AND CRYOPRESERVATION

Sterility

Sự nhiễm khuẩn Mycoplasma được loại trừ bằng cả các phương pháp xét nghiệm dựa trên PCR và các phương pháp phát hiện Mycoplasma dựa trên phát quang.
Để đảm bảo không có nhiễm khuẩn vi khuẩn, nấm hoặc men, các mẫu nuôi cấy tế bào được kiểm tra trực quan hàng ngày.

Freeze medium	Như một môi trường bảo quản đông lạnh, chúng tôi sử dụng môi trường tăng trưởng hoàn chỉnh (bao gồm FBS) + 10% DMSO để đảm bảo độ sống sau khi rã đông, hoặc CM-1 (mã sản phẩm Cytion 800100), bao gồm các chất bảo vệ thẩm thấu và chất ổn định chuyển hóa được tối ưu hóa để cải thiện quá trình phục hồi và giảm stress do đông lạnh gây ra.

Storage conditions

Để bảo quản lâu dài, hãy đặt ống nghiệm vào nitơ lỏng ở pha hơi ở nhiệt độ khoảng −150 đến −196 °C. Việc bảo quản ở −80 °C chỉ được chấp nhận như một bước trung gian ngắn hạn trước khi chuyển sang nitơ lỏng.

Shipping conditions

Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng −78 °C trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.

DONOR

Breed / subspecies	Osborne Mendel

LEGAL AND SAFETY

Safety precautions

Khi lập kế hoạch lưu trữ ống cryovial trong nitơ lỏng để rã đông sau này, việc tuân thủ các biện pháp an toàn nghiêm ngặt là bắt buộc. Găng tay và quần áo bảo hộ phù hợp là điều cần thiết, và việc sử dụng khẩu trang hoặc kính bảo hộ là bắt buộc trong quá trình chuyển mẫu đông lạnh vào hoặc ra khỏi bể nitơ lỏng. Điều này nhằm giảm thiểu nguy cơ chấn thương do nổ ống cryovial khi lấy ra, có thể dẫn đến việc văng ra các mảnh vỡ sắc nhọn.

Disclaimer

Các tế bào của chúng tôi được cung cấp độc quyền cho mục đích nghiên cứu trong phòng thí nghiệm in vitro và không được sử dụng cho mục đích lâm sàng hoặc chẩn đoán, cũng như không được tiêm cho con người hoặc sử dụng cho mục đích thú y. Người sử dụng phải tuân thủ tất cả các hướng dẫn và quy định áp dụng liên quan đến việc xử lý và sử dụng các tế bào này trong môi trường nghiên cứu.

Warranty

Tại Cytion, chúng tôi cam kết về chất lượng và khả năng sống của các sản phẩm của mình.
Chúng tôi đảm bảo rằng các tế bào của chúng tôi sẽ có khả năng sống tại thời điểm bắt đầu nuôi cấy trong
60 ngày kể từ khi vận chuyển từ cơ sở của chúng tôi.
Chúng tôi cam kết rằng tất cả các vật liệu tuân thủ các thông số kỹ thuật được mô tả trong
Giấy chứng nhận phân tích và/hoặc Tài liệu sản phẩm.
Để biết chi tiết đầy đủ, vui lòng tham khảo
<a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Tuyên bố Bảo hành.

Third-party agreements apply	Yes