Product sheet

Клетки NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 | 500672

Обща информация

Description	Клетъчната линия NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 е клонова стабилна клетъчна линия, получена от нормални плъши бъбречни клетки (NRK) чрез трансфекция на кръгов плазмид. Този плазмид съдържа генетични конструкти, кодиращи четири тандемни повторения на ламбда N22 РНК-свързващи места и три тандемни повторения на mEGFP (мономерен подобрен зелен флуоресцентен протеин), слети със сигнала за ядрена локализация M9. След трансфекцията клетките се подлагат на селекция за лекарствена устойчивост, за да се гарантира стабилността на генетичните модификации. Приблизително 50 % от клетките в тази клонова стабилна линия експресират флуоресцентния маркер 4xλN22-3xmEGFP-M9, което показва успешно включване на плазмида. Експресията на този маркер позволява визуализация на вътреклетъчните процеси в реално време, улеснена от силния флуоресцентен сигнал на mEGFP. Сигналът за ядрена локализация на M9 гарантира, че експресираните фюжън протеини се транспортират до ядрото, което прави тази клетъчна линия особено полезна за изучаване на ядрено-цитоплазмения транспорт, динамиката на РНК и регулирането на генната експресия. Тази клетъчна линия NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 е ценна за изследователи, които се фокусират върху взаимодействията между РНК-свързващи протеини, метаболизма на РНК и механизмите, които са в основата на ядрения внос и износ. Наличието на маркера mEGFP позволява използването на усъвършенствани техники за визуализация, като конфокална микроскопия и визуализация на живи клетки, което осигурява подробен поглед върху пространствената и времевата динамика на клетъчните компоненти. Въпреки варирането, клетъчната линия остава мощен инструмент за разчленяване на сложни молекулярни пътища и разбиране на клетъчните функции на по-дълбоко ниво.
Organism	Плъх
Tissue	Бъбреци
Synonyms	NRK 4xlN22-3xmEGFP-M9

Характеристики

Breed/Subspecies	OsborneMendel
Morphology	Фибробластоподобни клетки с фузиформена форма
Growth properties	Монослой, прилепнал

Регулаторни данни

Citation	NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 (каталожен номер 500672 на Cytion)

Клетки NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 | 500672

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10116
CellosaurusAccession	CVCL_AV97
Depositor	Лабораторията на Елънбърг (EMBL)

Биомолекулярни данни

Receptors expressed	Епидермален растежен фактор (EGF), стимулираща мултипликацията активност (MSA)
Protein expression	4xλN22-3xmEGFP-M9: Местоположение/ген: 937..1009, 1066..1138, 1194..1261, 1323..1390 / lambda пептид, 1462..2176, 2179..2890, 2896..3612 / mEGFP, 3612..3815 / M9-His, 5090..5884 / KanR/NeoR, 7195..584 / Pcmv
Products	M9-His таг между BsrG1/HindIII, неомицин, фосфотрансфераза, CMV промотор

Работа с

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L глюкоза, w: 4 mM L-глутамин, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM натриев пируват (номер на изделието на Cytion 820300a)
Supplements	Допълнете средата с 10% FBS, 0,5 mg/ml G418
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Изхвърлете старата среда и промийте клетките с PBS. Добавете прясно приготвен 0,025% разтвор на трипсин/0,02% EDTA, загрят до 37 градуса по Целзий, и изчакайте, докато клетките се отделят, което обикновено отнема около 5 минути. Неутрализирайте трипсина, като добавите прясна среда, след което прехвърлете клетъчната смес в епруветка и центрофугирайте. След центрофугирането отстранете супернатантата, ресуспендирайте клетъчната пелета в прясна хранителна среда и прехвърлете суспензията в нови колби. Включете G418 в хранителната среда, за да достигнете крайна концентрация от 0,5 mg/ml
Seeding density	2 до 4 x 10^{4} клетки/cm^2
Fluid renewal	2 до 3 пъти седмично

Клетки NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 | 500672

Freeze medium	Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.

2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под -150 °C, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.

3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура 37 °C, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.

4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.

5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбъркате внимателно.

6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.

7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.

8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, овлажнена атмосфера.

Flask Coating

За оптимално прикрепване и жизнеспособност след размразяване препоръчваме да се използват **колби или плаки с колагеново покритие**.

Клетки NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 | 500672

Freezing Procedure	Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.
Shipping Conditions	Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.
Storage Conditions	За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility	Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма. За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.