

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

Generel information

Description

NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9-cellelinjen er en klonal stabil cellelinje, der stammer fra normale rottenyreceller (NRK) gennem transfektion af et cirkulært plasmid. Dette plasmid indeholder genetiske konstruktioner, der koder for fire tandemgentagelser af lambda N22 RNA-bindingssteder og tre tandemgentagelser af mEGFP (monomeric enhanced green fluorescent protein) tags fusioneret med M9 nuklear lokaliseringssignal. Efter transfektionen gennemgik cellerne selektion for lægemiddelresistens for at sikre stabiliteten af de genetiske modifikationer.

Omkring 50 % af cellerne i denne stabile klon udtrykker den fluorescerende markør 4xλN22-3xmEGFP-M9, hvilket indikerer en vellykket inkorporering af plasmidet. Udtrykket af denne markør giver mulighed for realtidsvisualisering af intracellulære processer, hvilket lettes af det robuste fluorescerende signal fra mEGFP. M9-kernelokaliseringssignalet sikrer, at de udtrykte fusionsproteiner transporteres til kernen, hvilket gør denne cellelinje særligt nyttig til at studere nuklear-cytoplasmatisk transport, RNA-dynamik og regulering af genekspression.

Denne NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9-cellelinje er værdifuld for forskere, der fokuserer på RNA-bindende proteininteraktioner, RNA-metabolisme og de mekanismer, der ligger til grund for nuklear import og eksport. Tilstedeværelsen af mEGFP-markøren muliggør avancerede billeddannelsesteknikker som konfokal mikroskopi og levende cellebilleder, hvilket giver detaljeret indsigt i den rumlige og tidsmæssige dynamik i cellulære komponenter. På trods af variationen er cellelinjen stadig et stærkt værktøj til at dissekere komplekse molekulære veje og forstå cellulære funktioner på et dybere niveau.

Organism Rotte

Tissue Nyre

Synonyms NRK 4xλN22-3xmEGFP-M9

Karakteristika

Breed/Subspecies OsborneMendel

Morphology Fibroblastlignende celler med fusiform form

Growth properties Monolag, klæbende

Regulatoriske data

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

Biosafety level 1

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

NCBI_TaxID 10116**CellosaurusAccession** CVCL_AV97**Depositor** Ellenberg-laboratoriet (EMBL)**Biomolekylære data****Receptors expressed** Epidermal vækstfaktor (EGF), multiplikationsstimulerende aktivitet (MSA)**Protein expression** 4xλN22-3xmEGFP-M9: Beliggenhed/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**Products** M9-His-tag mellem BsrG1/HindIII, neomycin, fosfotransferase, CMV-promotor**Håndtering****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glukose, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)**Supplements** Suppler mediet med 10% FBS, 0,5 mg/mL G418**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Kassér det gamle medium, og vask cellerne med PBS. Tilsæt en frisklavet 0,025 % trypsin/0,02 % EDTA-opløsning, der er opvarmet til 37 grader Celsius, og vent, indtil cellerne løsner sig, hvilket normalt tager ca. 5 minutter. Neutraliser trypsinen ved at tilsætte frisk medium, overfør derefter celleblandingen til et rør og centrifuger. Efter centrifugering fjernes supernatanten, cellepelleten resuspenderes i frisk dyrkningsmedium, og suspensionen overføres til nye kolber. Tilsæt G418 til dyrkningsmediet for at opnå en endelig koncentration på 0,5 mg/ml**Split ratio** Det anbefales at bruge et forhold på 1:3 til 1:4**Seeding density** 2 til 4 x 10⁴ celler/cm²**Fluid renewal** 2 til 3 gange om ugen

NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9-celler | 500672**Freeze medium**

Som kryopræserveringsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobybeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under -150 °C for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et 37 °C varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved 300 x g i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%_{CO2}, befugtet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

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

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturene daglige visuelle inspektioner.

STR-profil

Rat_D1Wox31: 96,1
Rat_D2Wox37: 150.156
Rat_D19Wox11: 220
Rat_D10Wox8: 266,27
Rat_D4Wox7: 153.157
Rat_D2Wox27: 211.215
Rat_D5Rat33: 122.138
Rat_D10Wox11: 156
Rat_D1Wox23: 210.214
Rat_D12Wox1: 402.406
Rat_D6Wox2: 104.124
Rat_D8Wox7: 185
Rat_D6Cebr1: 223.233
SRY: x,Y