

NRK-4 λ N22-3xmEGFP-M9 sejtek | 500672

Általános információk

Description

Az NRK-4 λ N22-3xmEGFP-M9 sejt vonal egy klonális stabil sejt vonal, amely normál patkányvese (NRK) sejtekből származik egy körkörös plazmid transzfekeciója révén. Ez a plazmid a lambda N22 RNS-kötőhelyek négy tandem ismétlődését és az M9 nukleáris lokalizációs jelével fuzionált mEGFP (monomerekus, fokozottan zöld fluoreszcens fehérje) címkék három tandem ismétlődését kódoló genetikai konstrukciókat tartalmaz. A transzfekeciót követően a sejteket gyógyszerrezisztencia-szelekciónak vetettük alá a genetikai módosítások stabilitásának biztosítása érdekében.

Ebben a klonális stabil vonalban a sejtek körülbelül 50%-a expresszálja a 4 λ N22-3xmEGFP-M9 fluoreszcens markert, ami a plazmid sikeres beépülését jelzi. E marker expressziója lehetővé teszi az intracelluláris folyamatok valós idejű vizualizálását, amit megkönnyít a mEGFP robusztus fluoreszcens jele. Az M9 nukleáris lokalizációs jel biztosítja, hogy az expresszált fúziós fehérjék a sejt magba szállíthatódnak, így ez a sejt vonal különösen hasznos a nukleáris-citoplazmatikus transzport, az RNS-dinamika és a génexpresszió szabályozásának tanulmányozására.

Ez az NRK-4 λ N22-3xmEGFP-M9 sejt vonal értékes az RNS-kötőfehérje kölcsönhatásokra, az RNS-metabolizmusra és a nukleáris import és export alapjául szolgáló mechanizmusokra összpontosító kutatók számára. A mEGFP marker jelenléte lehetővé teszi az olyan fejlett képalkotó technikákat, mint a konfokális mikroszkópia és az élő sejtek képalkotása, amelyek részletes betekintést nyújtanak a sejt komponensek térbeli és időbeli dinamikájába. A változatosság ellenére a sejt vonal továbbra is hatékony eszköz a komplex molekuláris útvonalak feltárásához és a sejt funkciók mélyebb szintű megértéséhez.

Organism Patkány

Tissue Vese

Synonyms NRK 4 λ N22-3xmEGFP-M9

Jellemzők

Breed/Subspecies OsborneMendel

Morphology Fibroblaszt-szerű, fusiform alakú sejtek

Growth properties Monoréteg, tapadó

Szabályozási adatok

Citation NRK-4 λ N22-3xmEGFP-M9 (Cytion katalógusszám: 500672)

Biosafety level 1

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

NCBI_TaxID 10116**CellosaurusAccession** CVCL_AV97**Depositor** Az Ellenberg Labor (EMBL)**Biomolekuláris adatok****Receptors expressed** Epidermális növekedési faktor (EGF), szaporodást serkentő aktivitás (MSA)**Protein expression** 4xλN22-3xmEGFP-M9: Hely/gén: 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 a BsrG1/HindIII, Neomicin, foszfotranszferáz, CMV promotor között**A kezelése****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glükóz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM nátrium-piruvát (Cytion cikkszám 820300a)**Supplements** A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel, 0,5 mg/ml G418-zal**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Dobja ki a régi tápfolyadékot, és mossa ki a sejteket PBS-szel. Adjunk hozzá frissen készített 0,025%-os tripszin/0,02%-os EDTA oldatot 37 Celsius-fokra melegítve, és várjuk meg, amíg a sejtek leválnak, ami általában körülbelül 5 percig tart. Semlegesítse a tripszint friss tápfolyadék hozzáadásával, majd helyezze át a sejtkeveréket egy csőbe és centrifugálja. A centrifugálás után távolítsa el a felülúszót, reszuszpendálja a sejtpelletet friss táptalajban, és a szuszpenziót helyezze át új lombikba. Adjunk a táptalajhoz G418-at, hogy 0,5 mg/ml végkoncentrációt érjünk el**Split ratio** 1:3 és 1:4 közötti arányt javasolunk**Seeding density** 2-4 x 10⁴ sejt/cm²**Fluid renewal** hetente 2-3 alkalommal

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

Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a krioüveget 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtszuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejtanyagot 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejtvonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

Nincs

Freezing Procedure

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 sejtek | 500672**Shipping
Conditions**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

**Storage
Conditions**

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA**Sterility**

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.

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