

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

Bendra informacija

Description

NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 ląstelių linija yra stabili kloninė ląstelių linija, gauta iš normalių žiurkių inkstų (NRK) ląstelių, perkeliant žiedinę plazmidę. Šioje plazmidėje yra genetiniai konstruktai, koduojantys keturis tandeminius lambda N22 RNR jungiančių vietų pasikartojimus ir tris tandeminius mEGFP (monomerinio sustiprinto žaliojo fluorescuojančio baltymo) ženklų pasikartojimus, sujungtus su M9 branduolio lokalizacijos signalu. Po transfekcijos ląstelėms buvo taikoma atsparumo vaistams atranka, kad būtų užtikrintas genetinių modifikacijų stabilumas.

Maždaug 50 % šios stabilios kloninės linijos ląstelių išreiškia fluorescencinį žymenį 4xλN22-3xmEGFP-M9, o tai rodo sėkmingą plazmidės inkorporavimą. Šio žymeklio raiška leidžia realiuoju laiku vizualizuoti viduląstelinius procesus, o tai palengvina tvirtas mEGFP fluorescencinis signalas. M9 branduolio lokalizacijos signalas užtikrina, kad išreikšti sintezės baltymai būtų pernešti į branduolį, todėl ši ląstelių linija ypač naudinga tiriant branduolio ir citoplazmos pernešimą, RNR dinamiką ir genų raiškos reguliavimą.

Ši NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 ląstelių linija yra vertinga mokslininkams, tyrinėjantiems RNR jungiančių baltymų sąveiką, RNR metabolizmą ir branduolinio importo bei eksporto mechanizmus. Esant mEGFP žymeniui, galima taikyti pažangius vaizdavimo metodus, tokius kaip konfokalinė mikroskopija ir gyvų ląstelių vaizdavimas, leidžiančius išsamiai išvelgti ląstelės komponentų erdvinę ir laikinę dinamiką. Nepaisant įvairovės, ši ląstelių linija išlieka galinga priemone sudėtingiems molekuliniais keliams tirti ir ląstelės funkcijoms suprasti gilesniu lygmeniu.

Organism Žiurkės

Tissue Inkstai

Synonyms NRK 4xλN22-3xmEGFP-M9

Charakteristikos

Breed/Subspecies OsborneMendel

Morphology | fibroblastus panašios ląstelės, kurių forma yra susiliejanči

Growth properties Viensluoksnis, prigludęs

Reguliavimo duomenys

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

Biosafety level 1

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

NCBI_TaxID 10116**CellosaurusAccession** CVCL_AV97**Depositor** Ellenbergo laboratorija (EMBL)**Biomolekuliniai duomenys****Receptors expressed** Epidermio augimo veiksnys (EGF), dauginimąsi skatinantis aktyvumas (MSA)**Protein expression** 4xλN22-3xmEGFP-M9: vieta/genas: 937..1009, 1066..1138, 1194..1261, 1323..1390 / lambda peptidas, 1462..2176, 2179..2890, 2896..3612 / mEGFP, 3612..3815 / M9-His, 5090..5884 / KanR/NeoR, 7195..584 / Pcmv**Products** M9-His žymė tarp BsrG1/HindIII, neomicinas, fosfotransferazė, CMV Promotor**Tvarkymas****Culture Medium** DMEM, š: 4,5 g/l gliukozės, š: 4 mM L-glutamino, š: 3,7 g/l NaHCO₃, š: 1,0 mM natrio piruvato (Cytion gaminio numeris 820300a)**Supplements** Papildykite terpę 10 % FBS, 0,5 mg/ml G418**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Išmeskite seną terpę ir nuplaukite ląsteles PBS. Įpilkite šviežiai paruošto 0,025 % tripsino/0,02 % EDTA tirpalo, pašildyto iki 37 °C temperatūros, ir palaukite, kol ląstelės atsiskirs (paprastai tai trunka apie 5 minutes). Neutralizuokite tripsiną, įpilkite šviežios terpės, tada perkelti ląstelių mišinį į mėgintuvėlį ir centrifuguokite. Po centrifugavimo pašalinkite supernatantą, ląstelių granules vėl sutirpinkite šviežioje terpėje ir perpilkite suspensiją į naujas kolbas. Įmaišykite G418 į mitybinę terpę, kad galutinė koncentracija būtų 0,5 mg/ml**Split ratio** Rekomenduojamas santykis nuo 1:3 iki 1:4**Seeding density** 2–4 x 10⁴ ląstelės/cm²**Fluid renewal** 2-3 kartus per savaitę**Freeze medium** Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

NRK-4λλN22-3xmEGFP-M9 ląstelės | 500672

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Nėra

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

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

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystą azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.

STR profilis

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