

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

Vispārīga informācija

Description

NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 šūnu līnija ir klonāla stabila šūnu līnija, kas iegūta no normālām žurku nieru (NRK) šūnām, izmantojot apļveida plazmīdu transfekciju. Šī plazmīda satur ģenētiskas konstrukcijas, kas kodē četrus lambda N22 RNS saistīšanas vietu tandēmu atkārtojumus un trīs tandēmu atkārtojumus mEGFP (monomēra pastiprināta zaļā fluorescējošā proteīna) marķierus, kas sapludināti ar M9 kodola lokalizācijas signālu. Pēc transfekcijas šūnām veica zāļu rezistences atlasīšanu, lai nodrošinātu ģenētisko modifikāciju stabilitāti.

Aptuveni 50 % šūnu šajā klonālā stabilajā līnijā ekspresē fluorescējošo marķieri 4xλN22-3xmEGFP-M9, kas norāda uz veiksmīgu plazmīdas inkorporāciju. Šī marķiera ekspresija ļauj reāllaikā vizualizēt intracelulāros procesus, ko atvieglo mEGFP spēcīgais fluorescējošais signāls. M9 kodollocalizācijas signāls nodrošina, ka ekspresētie saplūšanas proteīni tiek transportēti uz kodolu, padarot šo šūnu līniju īpaši noderīgu kodol-citoplazmas transporta, RNS dinamikas un gēnu ekspresijas regulācijas pētījumiem.

Šī NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 šūnu līnija ir vērtīga pētniekiem, kuri pievēršas RNS saistošo proteīnu mijiedarbībai, RNS metabolismam un mehānismiem, kas nosaka kodola importu un eksportu. MEGFP marķiera klātbūtne ļauj izmantot modernas attēlveidošanas metodes, piemēram, konfokālo mikroskopiju un dzīvās šūnas attēlveidošanu, sniedzot detalizētu ieskatu šūnu komponentu telpiskajā un laika dinamikā. Neraugoties uz dažādību, šūnu līnija joprojām ir spēcīgs instruments sarežģītu molekulāro ceļu šķetināšanai un šūnu funkciju izpratnei padziļinātā līmenī.

Organism Žurkas

Tissue Nieres

Synonyms NRK 4xλN22-3xmEGFP-M9

Raksturojums

Breed/Subspecies OsborneMendel

Morphology Fibroblastiem līdzīgas šūnas ar fusiformas formu

Growth properties Vienslāņa, adhēzija

Normatīvie dati

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

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10116

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

CellosaurusAccession CVCL_AV97**Depositor** Ellenberga laboratorija (EMBL)**Biomolekulārie dati****Receptors expressed** Epidermas augšanas faktors (EGF), multiplikāciju stimulējoša aktivitāte (MSA)**Protein expression** 4xλN22-3xmEGFP-M9: Atrašanās vieta/gēns: 937..1009, 1066..1138, 1194..1261, 1323..1390 / lambda peptīds, 1462..2176, 2179..2890, 2896..3612 / mEGFP, 3612..3815 / M9-His, 5090..5884 / KanR/NeoR, 7195..584 / Pcmv**Products** M9-His birka starp BsrG1/HindIII, neomicīns, fosfotransferāze, CMV Promotors**Darbs ar****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glikozes, w: 4 mM L-glutamīna, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM nātrija piruvāta (Cytion izstrādājuma numurs 820300a)**Supplements** Papildiniet barotni ar 10% FBS, 0,5 mg/ml G418**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Izmetiet veco barotni un izskalojiet šūnas ar PBS. Pievienojiet svaigi sagatavotu 0,025 % tripsīna/0,02 % EDTA šķīdumu, kas uzsildīts līdz 37 °C temperatūrai, un pagaidiet, līdz šūnas atdalās, kas parasti ilgst apmēram 5 minūtes. Neitralizēt tripsīnu, pievienojot svaigu barotni, pēc tam šūnu maisījumu pārvietot mēģenē un centrifugēt. Pēc centrifugēšanas noņemiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnu granulas svaigā barotnē un pārnesiet suspensiju uz jaunām kolbām. Iekļaut G418 barotnē, lai sasniegtu galīgo koncentrāciju 0,5 mg/ml**Split ratio** Ieteicamais proporcijas ir no 1:3 līdz 1:4**Seeding density** 2 līdz 4 x 10⁴ šūnas/cm²**Fluid renewal** 2 līdz 3 reizes nedēļā**Freeze medium** Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanās un samazinātu krioinducēto stresu.

NRK-4xlambdaN22-3xMEGFP-M9 šūnas | 500672**Thawing and
Culturing Cells**

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Neviens

**Freezing
Procedure**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

NRK-4 λ EGFP-M9 šūnas | 500672**Shipping
Conditions**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

**Storage
Conditions**

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA**Sterility**

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.

STR profils

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