

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

Allmän information

Description

Cellinjen NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 är en klonal stabil cellinje som härrör från normala råttnjurceller (NRK) genom transfektion av en cirkulär plasmid. Denna plasmid innehåller genetiska konstruktioner som kodar för fyra tandemrepetitioner av lambda N22 RNA-bindningsställen och tre tandemrepetitioner av mEGFP (monomeric enhanced green fluorescent protein) taggar fusionerade med M9 kärnlokaliseringssignal. Efter transfektion genomgick cellerna selektion för läkemedelsresistens för att säkerställa stabiliteten hos de genetiska modifieringarna.

Cirka 50% av cellerna i denna klonala stabila linje uttrycker den fluorescerande markören 4xλN22-3xmEGFP-M9, vilket indikerar en framgångsrik inkorporering av plasmiden. Uttrycket av denna markör möjliggör visualisering i realtid av intracellulära processer, vilket underlättas av den robusta fluorescerande signalen från mEGFP. M9-signalen för nukleär lokalisering säkerställer att de uttryckta fusionsproteinerna transporteras till kärnan, vilket gör denna cellinje särskilt användbar för studier av nukleär-cytoplasmisk transport, RNA-dynamik och reglering av genuttryck.

Denna NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9-cellinje är värdefull för forskare som fokuserar på interaktioner mellan RNA-bindande proteiner, RNA-metabolism och de mekanismer som ligger bakom import och export till kärnan. Närvaron av mEGFP-markören möjliggör avancerade avbildningstekniker som konfokalmikroskopi och avbildning av levande celler, vilket ger detaljerade insikter i den rumsliga och tidsmässiga dynamiken hos cellkomponenter. Trots brokigheten är cellinjen fortfarande ett kraftfullt verktyg för att dissekera komplexa molekylära vägar och förstå cellfunktioner på en djupare nivå.

Organism Råtta

Tissue Njurar

Synonyms NRK 4xλN22-3xmEGFP-M9

Egenskaper

Breed/Subspecies OsborneMendel

Morphology Fibroblastliknande celler med fusiform form

Growth properties Monolager, vidhäftande

Lagstadgade uppgifter

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)**Biomolekylära data****Receptors expressed** Epidermal tillväxtfaktor (EGF), multiplikationsstimulerande aktivitet (MSA)**Protein expression** 4xλN22-3xmEGFP-M9: Plats/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 tagg mellan BsrG1/HindIII, Neomycin, Fosfotransferas, CMV Promotor**Hantering****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glukos, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)**Supplements** Komplettera mediet med 10% FBS, 0,5 mg/ml G418**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Kassera det gamla mediet och tvätta cellerna med PBS. Tillsätt en nyberedd 0,025% trypsin/0,02% EDTA-lösning som värmts upp till 37 grader Celsius och vänta tills cellerna lossnar, vilket vanligtvis tar cirka 5 minuter. Neutralisera trypsinet genom att tillsätta färskt medium, överför sedan cellblandningen till ett rör och centrifugera. Efter centrifugeringen avlägsnas supernatanten, cellpelleten resuspenderas i färskt odlingsmedium och suspensionen överförs till nya kolvar. Tillsätt G418 i odlingsmediet för att uppnå en slutlig koncentration på 0,5 mg/ml**Split ratio** Ett förhållande på 1:3 till 1:4 rekommenderas**Seeding density** 2 till 4 x 10⁴ celler/cm²**Fluid renewal** 2 till 3 gånger per vecka

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

Som kryokonserveringsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfrysad vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under -150 °C för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett 37 °C vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeshuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid 300 x g i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkanter; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%_{CO2}, befuktad atmosfär.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

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

Shipping Conditions

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överförs till lämplig förvaring.

Storage Conditions

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik.

För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella 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