

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

Genel bilgi

Description

NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 hücre hattı, dairesel bir plazmidin transfeksiyonu yoluyla normal sıçan böbrek (NRK) hücrelerinden türetilen klonal stabil bir hücre hattıdır. Bu plazmid, lambda N22 RNA bağlama bölgelerinin dört tandem tekrarını ve M9 nükleer lokalizasyon sinyali ile kaynaşmış mEGFP (monomerik geliştirilmiş yeşil floresan protein) etiketlerinin üç tandem tekrarını kodlayan genetik yapılar içerir. Transfeksiyon sonrası, genetik modifikasyonların stabilitesini sağlamak için hücreler ilaç direnci seçimine tabi tutulmuştur.

Bu klonal stabil hattaki hücrelerin yaklaşık %50'si, plazmidin başarılı bir şekilde dahil edildiğini gösteren floresan işaretleyici 4xλN22-3xmEGFP-M9'u ifade etmektedir. Bu işaretleyicinin ifadesi, mEGFP'nin güçlü floresan sinyali ile kolaylaştırılan hücre içi süreçlerin gerçek zamanlı olarak görselleştirilmesine olanak tanır. M9 nükleer lokalizasyon sinyali, eksprese edilen füzyon proteinlerinin çekirdeğe taşınmasını sağlayarak bu hücre hattını nükleer-sitoplazmik taşıma, RNA dinamikleri ve gen ekspresyonu düzenlemesini incelemek için özellikle kullanışlı hale getirir.

Bu NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 hücre hattı, RNA-bağlayıcı protein etkileşimleri, RNA metabolizması ve nükleer ithalat ve ihracatın altında yatan mekanizmalara odaklanan araştırmacılar için değerlidir. MEGFP işaretleyicisinin varlığı, konfokal mikroskopi ve canlı hücre görüntüleme gibi gelişmiş görüntüleme tekniklerini mümkün kılarak hücresel bileşenlerin uzamsal ve zamansal dinamikleri hakkında ayrıntılı bilgiler sağlar. Renk değişimine rağmen, hücre hattı karmaşık moleküler yolları incelemek ve hücresel işlevleri daha derin bir düzeyde anlamak için güçlü bir araç olmaya devam etmektedir.

Organism Sıçan

Tissue Böbrek

Synonyms NRK 4xλN22-3xmEGFP-M9

Özellikler

Breed/Subspecies OsborneMendel

Morphology Fusiform şekilli fibroblast benzeri hücreler

Growth properties Tek katmanlı, yapışık

Düzenleyici Veriler

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

Biosafety level 1

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

NCBI_TaxID 10116**CellosaurusAccession** CVCL_AV97**Depositor** Ellenberg Laboratuvarı (EMBL)**Biyomoleküler Veriler****Receptors expressed** Epidermal büyüme faktörü (EGF), çoğalmayı uyarıcı aktivite (MSA)**Protein expression** 4xλN22-3xmEGFP-M9: Konum/Gen: 937..1009, 1066..1138, 1194..1261, 1323..1390 / lambda peptidi, 1462..2176, 2179..2890, 2896..3612 / mEGFP, 3612..3815 / M9-His, 5090..5884 / KanR/NeoR, 7195..584 / Pcmv**Products** BsrG1/HindIII arasında M9-His etiketi, Neomisin, Fosfotransferaz, CMV Promotor**Elleçleme****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L Glukoz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM Sodyum piruvat (Cytion ürün numarası 820300a)**Supplements** Ortamı %10 FBS, 0,5 mg/mL G418 ile takviye edin**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Eski ortamı atın ve hücreleri PBS ile yıkayın. Taze hazırlanmış %0,025 tripsin/%0,02 EDTA çözeltisini 37 santigrat dereceye ısıtarak ekleyin ve hücreler ayrılana kadar bekleyin; bu süre genellikle yaklaşık 5 dakika sürer. Taze besiyeri ekleyerek tripsini nötralize edin, ardından hücre karışımını bir tüpe aktarın ve santrifüjleyin. Santrifüjden sonra süpernatantı çıkarın, hücre peletini taze kültür ortamında yeniden süspansiyon edin ve süspansiyonu yeni şişelere aktarın. 0,5 mg/ml nihai konsantrasyon elde etmek için kültür ortamına G418 ekleyin**Split ratio** 1:3 ile 1:4 arası bir oran önerilir**Seeding density** 2 ila 4 x 10⁴ hücre/cm²**Fluid renewal** haftada 2 ila 3 kez**Freeze medium** Kriyoprezervasyon ortamı olarak, yeterli çözülme sonrası canlılık için tam büyüme ortamı (FBS dahil) + %10 DMSO veya iyileşmeyi artırmak ve kriyo-indüklenmiş stresi azaltmak için optimize edilmiş ozmoprotektanlar ve metabolik stabilizatörler içeren CM-1 (Cytion katalog numarası 800100) kullanıyoruz.

NRK-4λN22-3xEGFP-M9 Hücreleri | 500672**Thawing and
Culturing Cells**

1. Hücreler taşıma sırasında optimum sıcaklıkları korumak için kuru buz üzerinde gönderildiğinden, flakonun teslimat sırasında derin dondurulmuş halde kaldığını teyit edin.
2. Teslim aldıktan sonra, hücresel bütünlüğün korunmasını sağlamak için kriyovialı hemen -150°C'nin altındaki sıcaklıklarda saklayın veya hemen kültürleme gerekiyorsa 3. adıma geçin.
3. Derhal kültürleme için flakonun temiz su ve antimikrobiyal bir madde içeren 37°C'lik bir su banyosuna daldırıp küçük bir buz kümesi kalana kadar 40-60 saniye boyunca hafifçe çalkalayarak hızlıca çözün.
4. Sonraki tüm adımları steril koşullar altında bir akış başlığı içinde gerçekleştirin ve açmadan önce kriyoviyalleri %70 etanol ile dezenfekte edin.
5. Dezenfekte edilmiş flakonun dikkatlice açın ve hücre süspansiyonunu 8 ml oda sıcaklığında kültür ortamı içeren 15 ml'lik bir santrifüj tüpüne aktarın ve hafifçe karıştırın.
6. Hücreleri ayırmak için karışımı 300 x g'de 3 dakika santrifüjleyin ve artık dondurma ortamı içeren süpernatantı dikkatlice atın.
7. Hücre pelletini 10 ml taze kültür ortamında yavaşça yeniden süspansiyon edin. Yapışık hücreler için, süspansiyonu iki T25 kültür şişesi arasında bölün; süspansiyon kültürleri için, etkili hücre etkileşimini ve büyümesini teşvik etmek üzere tüm ortamı tek bir T25 şişesine aktarın.
8. Hücre hattının sürekli büyümesi ve bakımı için belirlenmiş alt kültür protokollerine uyun ve güvenilir deneysel sonuçlar elde edin.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, %5_{CO2}, nemlendirilmiş atmosfer.

Flask Coating

Yok

**Freezing
Procedure**

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

**Shipping
Conditions**

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

NRK-4 λ lambaN22-3xmEGFP-M9 Hücresi | 500672

Storage Conditions

Uzun süreli muhafaza için flakonları yaklaşık -150 ila -196 °C'de buhar fazlı sıvı nitrojen içine yerleştirin. 80 °C'de saklama yalnızca sıvı nitrojene aktarılmadan önce kısa bir ara adım olarak kabul edilebilir.

Kalite kontrol / Genetik profil / HLA

Sterility

Mikoplazma kontaminasyonu hem PCR tabanlı tahliller hem de lüminesans tabanlı mikoplazma tespit yöntemleri kullanılarak dışlanır.

Bakteriyel, fungal veya maya kontaminasyonu olmadığından emin olmak için hücre kültürleri günlük görsel incelemelere tabi tutulur.

STR profili

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