

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

Загальна інформація

Description

Клітинна лінія NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 - це клональна стабільна клітинна лінія, отримана з клітин нормальної нирки щура (NRK) шляхом трансфекції кільцевої плазмиди. Ця пламіда містить генетичні конструкції, що кодують чотири тандемні повтори РНК-зв'язуючих сайтів лямбда N22 і три тандемні повтори міток mEGFP (мономерний посилений зелений флуоресцентний білок), злитих з сигналом ядерної локалізації M9. Після трансфекції клітини пройшли селекцію на стійкість до лікарських препаратів, щоб забезпечити стабільність генетичних модифікацій.

Приблизно 50% клітин цієї клональної стабільної лінії експресують флуоресцентний маркер 4xλN22-3xmEGFP-M9, що свідчить про успішне включення плазмиди. Експресія цього маркера дозволяє візуалізувати внутрішньоклітинні процеси в реальному часі завдяки потужному флуоресцентному сигналу mEGFP. Сигнал ядерної локалізації M9 гарантує, що експресовані білки злиття транспортуються до ядра, що робить цю клітинну лінію особливо корисною для вивчення ядерно-цитоплазматичного транспорту, динаміки РНК та регуляції експресії генів.

Клітинна лінія NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 є цінною для дослідників, які вивчають РНК-зв'язуючі білкові взаємодії, метаболізм РНК та механізми, що лежать в основі ядерного імпорту та експорту. Наявність маркера mEGFP уможлиблює застосування сучасних методів візуалізації, таких як конфокальна мікроскопія та візуалізація живих клітин, що дає змогу детально вивчати просторову та часову динаміку клітинних компонентів. Незважаючи на різноманітність, клітинна лінія залишається потужним інструментом для препарування складних молекулярних шляхів і розуміння клітинних функцій на більш глибокому рівні.

Organism Щур

Tissue Нирка

Synonyms NRK 4xλN22-3xmEGFP-M9

Характеристики

Breed/Subspecies Осборн-Мендель

Morphology Фібробластоподібні клітини веретеноподібної форми

Growth properties Одношаровий, адгезійний

Нормативні дані

Citation NRK-4xlambdaN22-3xmEGFP-M9 (номер за каталогом Cytion 500672)

Клітини NRK-4 λ N22-3 μ mEGFP-M9 | 500672**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10116**CellosaurusAccession** CVCL_AV97**Depositor** Лабораторія Елленберга (EMBL)

Біомолекулярні дані

Receptors expressed Епідермальний фактор росту (EGF), активність, що стимулює розмноження (MSA)**Protein expression** 4 λ N22-3 μ mEGFP-M9: Розташування/ген: 937..1009, 1066.1138, 1194.1261, 1323.1390 / лямбда-пептид, 1462.2176, 2179.2890, 2896.3612 / mEGFP, 3612.3815 / M9-His, 5090.5884 / KanR/NeoR, 7195.584 / Pcmv**Products** M9 - Його тег між BsrG1/HindIII, неоміцин, фосфотрансфераза, промотор ЦМВ

Обробка

Culture Medium ДМЕМ, w: 4,5 г/л Глюкоза, w: 4 мМ L-глутамін, w: 3,7 г/л NaHCO₃, w: 1,0 мМ піруват натрію (цит. номер 820300a)**Supplements** Додайте до середовища 10% FBS, 0,5 мг/мл G418**Dissociation Reagent** Аккутаза**Subculturing** Викиньте старе середовище і промийте клітини PBS. Додайте свіжоприготований 0,025% розчин трипсину/0,02% розчин EDTA, нагрітий до 37 градусів Цельсія, і зачекайте, поки клітини відокремляться, що зазвичай займає близько 5 хвилин. Нейтралізуйте трипсин, додавши свіже середовище, потім перенесіть клітинну суміш у пробірку і центрифугуйте. Після центрифугування видаліть надосадову рідину, ресуспендуйте осад клітин у свіжому живильному середовищі та перенесіть суспензію в нові колби. Додайте G418 в культуральне середовище для досягнення кінцевої концентрації 0,5 мг/мл**Split ratio** Рекомендується співвідношення від 1:3 до 1:4**Seeding density** Від 2 до 4 x 10⁴ клітин/см²**Fluid renewal** 2-3 рази на тиждень

Клітини NRK-4 λ lambdAN22-3xmEGFP-M9 | 500672**Freeze medium**

Як середовище криоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення криоіндукованого стресу.

Thawing and Culturing Cells

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте криовіал при температурі нижче -150°C , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануливши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи криовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при $300 \times g$ протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтесь встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , волога атмосфера.

Flask Coating

Hi

Клітини NRK-4 λ lambdaN22-3xmEGFP-M9 | 500672

Freezing Procedure

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Storage Conditions

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості / Генетичний профіль / HLA

Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.

Профіль STR

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
STRY: x, Y