Product sheet

Клетки HK-CRISPR-Nup188-mEGFP | 300657

Обща информация

Description	HK-CRISPR-Nup188-mEGFP е генетично модифицирана клетъчна линия Hela Kyoto. Тя използва технологията CRISPR/Cas9 за интегриране на mEGFP (мономерен подобрен зелен флуоресцентен протеин) в локуса на Nup188. Nup188 е ключов нуклеопоринов протеин, участващ в комплекса на ядрената пора, който е от съществено значение за преноса на молекули между ядрото и цитоплазмата. Маркирането с mEGFP позволява визуализиране на Nup188 в реално време, което подпомага изследването на динамиката и функцията на комплекса на ядрената пора. Тази клетъчна линия е особено полезна за изследователи, които се занимават с ядрен транспорт и биология на ядрения порен комплекс. Нейното флуоресцентно маркиране позволява наблюдение на Nup188 при различни условия, включително третиране с лекарства и генетични модификации. Приложенията включват скрининг с високо съдържание, изобразяване на живи клетки и други техники, базирани на флуоресценция, които осигуряват ценни познания за нуклеоцитоплазмения транспорт и целостта на ядрената обвивка.
Organism	Човек
Tissue	Ендоцервикс
Disease	Аденокарцином
Metastatic site	Неприложимо (дериват на HeLa Kyoto; първичната туморна локализация е ендоцервикс)
Applications	Биология на ядрения порен комплекс (NPC); ядрено-цитоплазмен транспорт; динамика и функция на Nup188; флуоресцентно изобразяване на ядрената обвивка в живи клетки; скрининг с висока информационна плътност; проучвания за валидиране на CRISPR-нокаут; оценка на инхибитори на ядрения транспорт

Характеристики

Age	30 години
Gender	Жена
Ethnicity	Афроамериканец
Morphology	Епителиални клетки с форма на мозаечно камъче
Cell type	Епителни клетки
Growth properties	Придържащи се

Клетки HK-CRISPR-Nup188-mEGFP | 300657

Регулаторни данни

Citation	HK-CRISPR-Nup188-mEGFP (каталожен номер 300657 на Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	Не е определено (HK-CRISPR-Nup188-mEGFP е CRISPR-модифициран дериват на HeLa Kyoto; родителска линия HeLa Kyoto CVCL_1922)
Depositor	Лабораторията на Елънбърг (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Тази линия HeLa Kyoto съдържа CRISPR нок-ин на mEGFP в локуса Nup188, което позволява визуализиране на динамиката на скелето на ядрената пора. Тази класификация се прилага само в Германия и може да се различава в други страни.

Биомолекулярни данни

Protein expression	Nup188, mEGFP-таг

Работа с

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L глюкоза, w: 4 mM L-глутамин, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM натриев пируват (номер на изделието на Cytion 820300a)
Supplements	Допълнете средата с 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.

Клетки HK-CRISPR-Nup188-mEGFP | 300657

Freeze medium	Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.

2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под -150 °C, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.

3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура 37 °C, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.

4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.

5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбъркате внимателно.

6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.

7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.

8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, овлажнена атмосфера.
Flask Coating	Няма

Клетки HK-CRISPR-Nup188-mEGFP | 300657

Freezing Procedure	Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.
Shipping Conditions	Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.
Storage Conditions	За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството и молекулярен анализ

Sterility	Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма. За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.