

## Клетки НК-CRISPR-mEGFP-Seh1 | 300669

## Обща информация

## Description

Клетъчната линия НК-CRISPR-mEGFP-Seh1 е разработена за прецизно геномно редактиране с помощта на системата CRISPR/Cas9, насочена към гена Seh1. Seh1 е част от комплекса на ядрените пори, който е от решаващо значение за нуклеоцитоплазмения транспорт. Включването на мономерен подобрен зелен флуоресцентен протеин (mEGFP) позволява визуализиране на Seh1, което подпомага изследванията на неговата клетъчна локализация и функция.

Тази клетъчна линия е ценна за изследвания на ролята на Seh1 в клетъчни процеси като митоза и гена експресия. Флуоресцентното маркиране с mEGFP дава възможност за изобразяване на живи клетки, което улеснява изследванията на заболявания, свързани с дисфункция на комплекса на ядрените пори, включително някои видове рак и невродегенеративни заболявания. Клетъчната линия НК-CRISPR-mEGFP-Seh1 съчетава генетична модификация с усъвършенствана визуализация за цялостни биомедицински изследвания.

## Organism

Човек

## Tissue

Ендоцервикс

## Disease

Аденокарцином

## Характеристики

## Age

30 години

## Gender

Жена

## Ethnicity

Афроамериканец

## Morphology

Епителиални клетки с форма на мозаечно камъче

## Growth properties

Придържачи се

## Регулаторни данни

## Citation

НК-CRISPR-mEGFP-Seh1 (каталожен номер 300669 на Cytion)

## Biosafety level

1

## NCBI\_TaxID

9606

**Клетки НК-CRISPR-mEGFP-Seh1 | 300669****Depositor**      Лабораторията на Елнбърг (EMBL)**GMO Status**      GMO-S1: Тази линия HeLa Kyoto съдържа CRISPR нокаут на mEGFP в локуса Seh1, което подпомага анализа на динамиката на Y-комплекса в живи клетки. Тази класификация се прилага само в Германия и може да се различава в други страни.**Биомолекулярни данни****Protein expression**      Seh1, mEGFP-таг**Работа с****Culture Medium**      DMEM, w: 4,5 g/L глюкоза, w: 4 mM L-глутамин, w: 3,7 g/L NaHCO<sub>3</sub>, 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.**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.

**Клетки НК-CRISPR-mEGFP-Seh1 | 300669****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  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 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  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 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 разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при  $300 \times g$  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**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , овлажнена атмосфера.

**Flask Coating**

Няма

**Freezing  
Procedure**

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

## Клетки НК-CRISPR-mEGFP-Seh1 | 300669

### Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително  $-78^{\circ}\text{C}$  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  $-196^{\circ}\text{C}$ . Съхранението при  $-80^{\circ}\text{C}$  е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

## Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

### 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.