

Buňky HK-CRISPR-Pom121-mCherry | 300658

Obecné informace

Description

Buněčná linie HK-CRISPR-Pom121-mCherry je geneticky upravená varianta buněk HeLa Kyoto, určená pro pokročilý buněčný výzkum. Tyto buňky byly upraveny pomocí technologie CRISPR-Cas9 tak, aby ke genu Pom121, klíčové součásti komplexu jaderných pórů (NPC), přidaly fluorescenční značku mCherry. Tato úprava umožňuje výzkumníkům vizualizovat Pom121 v reálném čase, což napomáhá studiu jaderné dynamiky a funkcí NPC.

Značka mCherry, která vyzařuje červenou fluorescenci, usnadňuje podrobné zkoumání chování NPC a jaderně-cytoplazmatického transportu pomocí fluorescenční mikroskopie. Tato buněčná linie je cenným nástrojem pro zkoumání proteinů jaderných pórů, regulace genové exprese, řízení buněčného cyklu a přenosu signálu.

Organism Člověk

Tissue Endocervix

Disease Adenokarcinom

Charakteristika

Age 30 let

Gender Ženy

Ethnicity Afroameričan

Morphology Buňky podobné epitelu s mozaikovitým tvarem kamínků

Growth properties Adherentní

Regulační údaje

Citation HK-CRISPR-Pom121-mCherry (katalogové číslo Cytion 300658)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

Depositor Ellenbergova laboratoř (EMBL)

Buňky HK-CRISPR-Pom121-mCherry | 300658

GMO Status GMO-S1: Tato linie HeLa Kyoto obsahuje CRISPR-mediovanou mCherry značku na Pom121, která umožňuje vizualizaci složek membrány jaderného póru. Tato klasifikace platí pouze v Německu a jinde se může lišit.

Biomolekulární data

Protein expression Pom121, mCherry-tag

Zpracování

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutaminu, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)

Supplements Doplněte médium o 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.

Freeze medium Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Buňky HK-CRISPR-Pom121-mCherry | 300658

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žádný

Freezing Procedure

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Buňky HK-CRISPR-Pom121-mCherry | 300658

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.