

HK-CRISPR-Pom121-mCherry-celler | 300658

Generel information

Description

HK-CRISPR-Pom121-mCherry-cellelinjen er en genetisk modificeret variant af HeLa Kyoto-celler, der er designet til avanceret celleforskning. Disse celler er blevet modificeret ved hjælp af CRISPR-Cas9-teknologi for at tilføje et fluorescerende mCherry-tag til Pom121-genet, en nøglekomponent i kerneporekomplekset (NPC). Denne ændring gør det muligt for forskere at visualisere Pom121 i realtid, hvilket bidrager til undersøgelser af kernedynamik og NPC-funktioner.

MCherry-tagget, der udsender rød fluorescens, letter detaljeret undersøgelse af NPC-adfærd og nuklear-cytoplasmatiske transport ved hjælp af fluorescensmikroskopi. Denne cellelinje er et værdifuldt værktøj til at undersøge nukleare poreproteiner, regulering af genekspression, cellecykluskontrol og signaltransduktion.

Organism Menneske

Tissue Endocervix

Disease Adenokarcinom

Karakteristika

Age 30 år

Gender Kvinde

Ethnicity Afroamerikaner

Morphology Epitel-lignende celler med mosaikstenform

Growth properties Vedhæftende

Regulatoriske data

Citation HK-CRISPR-Pom121-mCherry (Cytion katalognummer 300658)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

Depositor Ellenberg-laboratoriet (EMBL)

HK-CRISPR-Pom121-mCherry-celler | 300658

GMO Status GMO-S1: Denne HeLa Kyoto-linje indeholder et CRISPR-medieret mCherry-tag på Pom121, der muliggør visualisering af komponenter i kerneporemembranen. Denne klassificering gælder kun i Tyskland og kan variere andre steder.

Biomolekylære data

Protein expression Pom121, mCherry-tag

Håndtering

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L glukose, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)

Supplements Suppler mediet med 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspender cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.

Freeze medium Som kryopræservesmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmoteskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.

HK-CRISPR-Pom121-mCherry-celler | 300658

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befugtet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

HK-CRISPR-Pom121-mCherry-celler | 300658

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.