

HK-CRISPR-mEGFP-Seh1-Zellen | 300669

Allgemeine Informationen

Description

Die HK-CRISPR-mEGFP-Seh1-Zelllinie wurde für die präzise Genom-Editierung mit dem CRISPR/Cas9-System entwickelt und zielt auf das Seh1-Gen ab. Seh1 ist Teil des Kernporenkomplexes, der für den nukleozytoplasmatischen Transport entscheidend ist. Durch den Einbau eines monomeren, grün fluoreszierenden Proteins (mEGFP) kann Seh1 sichtbar gemacht werden, was Studien über seine zelluläre Lokalisierung und Funktion erleichtert.

Diese Zelllinie ist wertvoll für die Erforschung der Rolle von Seh1 bei zellulären Prozessen wie der Mitose und der Genexpression. Die fluoreszierende Markierung mit mEGFP ermöglicht die Bildgebung in lebenden Zellen und erleichtert die Untersuchung von Krankheiten, die mit einer Fehlfunktion des Kernporenkomplexes zusammenhängen, darunter bestimmte Krebsarten und neurodegenerative Störungen. Die HK-CRISPR-mEGFP-Seh1-Zelllinie kombiniert genetische Modifikation mit fortgeschrittener Bildgebung für umfassende biomedizinische Forschung.

Organism

Menschen

Tissue

Endozervix

Disease

Adenokarzinom

Merkmale

Age

30 Jahre

Gender

Weiblich

Ethnicity

Afroamerikaner

Morphology

Epithelähnliche Zellen mit mosaikartiger Steinform

Growth properties

Adhärenz

Regulatorische Daten

Citation

HK-CRISPR-mEGFP-Seh1 (Cytion-Katalognummer 300669)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

HK-CRISPR-mEGFP-Seh1-Zellen | 300669**Depositor** Das Ellenberg-Labor (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Diese HeLa-Kyoto-Linie enthält einen CRISPR-Knock-in von mEGFP am Seh1-Lokus, der die Analyse der Dynamik des Y-Komplexes in lebenden Zellen ermöglicht. Diese Klassifizierung gilt nur innerhalb Deutschlands und kann in anderen Ländern abweichen.**Biomolekulare Daten****Protein expression** Seh1, mEGFP-Tag**Handhabung****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L Glucose, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM Natriumpyruvat (Cytion-Artikelnummer 820300a)**Supplements** Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Entfernen Sie das alte Medium von den adhären Zellen und waschen Sie sie mit PBS, das kein Kalzium und Magnesium enthält. Für T25-Kolben 3-5 ml PBS und für T75-Kolben 5-10 ml verwenden. Anschließend werden die Zellen vollständig mit Accutase bedeckt, wobei 1-2 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben verwendet werden. Lassen Sie die Zellen 8-10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, um sie abzulösen. Nach der Inkubation mischen Sie die Zellen vorsichtig mit 10 ml Medium, um sie zu resuspendieren, und zentrifugieren sie dann 3 Minuten lang bei 300xg. Den Überstand verwerfen, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Kolben überführen, die bereits frisches Medium enthalten.**Freeze medium** Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

HK-CRISPR-mEGFP-Seh1-Zellen | 300669

Thawing and Culturing Cells

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei $300 \times g$, um die Zellen abzutrennen, und werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhärennten Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , befeuchtete Atmosphäre.

Flask Coating

Keine

Freezing Procedure

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

HK-CRISPR-mEGFP-Seh1-Zellen | 300669

Shipping Conditions

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Storage Conditions

Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Qualitätskontrolle / Genetisches Profil / HLA

Sterility

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.

Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.