Product sheet

Κύτταρα HK-CRISPR-Tpr-mEGFP | 300662

Γενικές πληροφορίες

Description	Η κυτταρική σειρά HK-CRISPR-Tpr-mEGFP είναι ένα εξειδικευμένο μοντέλο που αναπτύχθηκε για προηγμένη γενετική έρευνα, ιδίως για μελέτες γονιδιωματικής επεξεργασίας και γονιδιακής έκφρασης. Προέρχεται από τα κύτταρα HeLa Kyoto και ενσωματώνει την τεχνολογία CRISPR/Cas9 για ακριβείς γονιδιωματικές τροποποιήσεις. Η ενσωμάτωση του γονιδίου αναφοράς mEGFP (μονομερής ενισχυμένη πράσινη φθορίζουσα πρωτεΐνη) διευκολύνει την οπτικοποίηση σε πραγματικό χρόνο και την παρακολούθηση των κυτταρικών διεργασιών, καθιστώντας την ένα ισχυρό εργαλείο για τη μελέτη της γονιδιακής λειτουργίας, του πρωτεϊνικού εντοπισμού και των δυναμικών κυτταρικών συμβάντων σε ζωντανά κύτταρα. Αυτή η κυτταρική σειρά είναι ιδιαίτερα χρήσιμη για νεφρολογική έρευνα, ανακάλυψη φαρμάκων και μελέτες τοξικολογίας. Η έκφραση του γονιδίου Tpr, ενός συστατικού του συμπλόκου των πυρηνικών πόρων, βοηθά στην κατανόηση των μηχανισμών πυρηνικής μεταφοράς και του κυτταρικού διαμερισματοποίησης. Οι ερευνητές χρησιμοποιούν τα κύτταρα HK-CRISPR-Tpr-mEGFP για να διερευνήσουν τους ρόλους των πρωτεϊνών του πυρηνικού πόρου σε διάφορα κυτταρικά μονοπάτια, συμβάλλοντας στη γνώση του καρκίνου, των ιογενών λοιμώξεων και των γενετικών διαταραχών.
Organism	Ανθρώπινο
Tissue	Ενδοτράχηλος
Disease	Αδενοκαρκίνωμα

Χαρακτηριστικά

Age	30 χρόνια
Gender	Γυναίκα
Ethnicity	Αφροαμερικανός
Morphology	Επιθηλιακά κύτταρα με ψηφιδωτό σχήμα πέτρας
Growth properties	Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation	HK-CRISPR-Tpr-mEGFP (αριθμός καταλόγου Cytion 300662)
Biosafety level	1

Κύτταρα HK-CRISPR-Tpr-mEGFP | 300662

NCBI_TaxID	9606
Depositor	Εργαστήριο Ellenberg (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Αυτή η γραμμή HeLa Kyoto περιέχει ένα Tpr με ετικέτα mEGFP που παράγεται μέσω CRISPR, επιτρέποντας μελέτες της αρχιτεκτονικής του πυρηνικού καλαθιού. Η ταξινόμηση αυτή ισχύει μόνο εντός της Γερμανίας και ενδέχεται να διαφέρει αλλού.

Βιομοριακά δεδομένα

Protein expression	Tpr, ετικέτα mEGFP

Χειρισμός

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L γλυκόζη, w: 4 mM L-γλουταμίνη, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM πυρουβικό νάτριο (αριθμός άρθρου Cytion 820300a)
Supplements	Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.
Freeze medium	Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Κύτταρα HK-CRISPR-Tpr-mEGFP | 300662

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.

2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.

3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.

4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.

5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.

6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.

7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.

8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, υγροποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Για βέλτιστη προσκόλληση και βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, συνιστούμε τη χρήση **φιαλών ή πλακών με επικάλυψη κολλαγόνου**.

Freezing Procedure

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Κύτταρα HK-CRISPR-Tpr-mEGFP | 300662

Shipping Conditions	Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.
Storage Conditions	Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

Sterility	Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια. Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.