

HK-CRISPR-NUP205-mEGFP rakud | 301574

Üldine teave

Description

HK-CRISPR-NUP205-mEGFP rakuliin on geneetiliselt muundatud inimese rakuliin, mis on loodud nukleoporiin 205 (NUP205) ja selle rolli uurimiseks tuumapoorikompleksis. CRISPR-Cas9-ga modifitseeritud NUP205 märgistamiseks monomeerse tugevdatud rohelise fluorestseeruva valguga (mEGFP) võimaldab see NUP205 visualiseerimist ja jälgimist elusrakkudes, aidates uurida tuuma transpordimehhanisme ja tuumapoorikompleksi dünaamikat.

NUP205 on kriitiline tuumapoorikompleksi komponent, mis reguleerib molekulide transporti tuuma ja tsütoplasma vahel. NUP205 märgistamine mEGFP-ga võimaldab teadlastel jälgida selle lokaliseerimist ja käitumist reaajas fluorestsentsmikroskoobi all, mistõttu on see rakuliin eriti kasulik tuumapoorikompleksi struktuuriliste ja funktsionaalsete aspektide ning nende rolli uurimiseks geeniekspressioonis, RNA töötlemisel ja rakutsükliks.

HK-CRISPR-NUP205-mEGFP rakuliin on võimas vahend nukleotsütoplasma transpordimehhanismide ja tuumapoorikompleksi rolli uurimiseks raku homöostaasis. See on väärtuslik ka selleks, et uurida, kuidas tuumapooride funktsiooni häired aitavad kaasa selliste haiguste nagu vähk ja neurodegeneratiivsed häired, pakkudes tugevat mudelit, et edendada meie arusaamist tuumatranspordist ja selle mõjust inimeste tervisele.

Organism Inimene

Tissue Endocervix

Disease Adenokartsinoom

Synonyms HK-CRISPR-NUP205-mEGFP #81

Omadused

Age 30 aastat

Gender Naised

Ethnicity Afroameeriklane

Morphology Epiteelilaadsed rakud, millel on mosaiikne kivikuju

Growth properties Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

HK-CRISPR-NUP205-mEGFP rakud | 301574

Citation	HK-CRISPR-NUP205-mEGFP (Cytioni katalooginumber 301574)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_UR49
Depositor	Ellenbergi labor (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: See HeLa Kyoto liin sisaldab CRISPR-töödeldud mEGFP-fusiooni NUP205 lokaalis, mis on ette nähtud tuumapooride uurimiseks. See klassifikatsioon kehtib ainult Saksamaal ja võib mujal erineda.

Biomolekulaarsed andmed

Products	EGFP (tõhustatud roheline fluorestseeruv valk)
-----------------	--

Töötlemine

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glükoosi, w: 4 mM L-glutamiini, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM naatriumpüruvaati (Cytioni artikli number 820300a)
Supplements	Täiendada söötme 10% FBS-ga
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Eemaldage kleepunud rakkudel vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifugeerige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.
Fluid renewal	2 kuni 3 korda nädalas
Freeze medium	Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

HK-CRISPR-NUP205-mEGFP rakud | 301574

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Optimaalse kinnitumise ja elujõulisuse tagamiseks pärast sulatamist soovitame kasutada **kollageeniga kaetud koldeid või plaate**.

Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

HK-CRISPR-NUP205-mEGFP rakud | 301574

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.