

## HK-CRISPR-mEGFP-Seh1-solut | 300669

## Yleisiä tietoja

## Description

HK-CRISPR-mEGFP-Seh1-solulinja on kehitetty tarkkaa genomieditointia varten CRISPR/Cas9-järjestelmällä, joka kohdistuu Seh1-geeniin. Seh1 on osa ydinhuokoskompleksia, joka on ratkaisevan tärkeä nukleosyttoplasmisen kuljetuksen kannalta. Monomeerisen tehostetun vihreän fluoresoivan proteiinin (mEGFP) sisällyttäminen mahdollistaa Seh1:n visualisoinnin, mikä helpottaa sen solulokalisoinnin ja toiminnan tutkimista.

Tämä solulinja on arvokas tutkittaessa Seh1:n roolia soluprosesseissa, kuten mitoosissa ja geeniekspressiossa. Fluoresoiva merkintä mEGFP:llä mahdollistaa elävässä solussa tapahtuvan kuvantamisen, mikä helpottaa tutkimuksia sairauksista, jotka liittyvät ydinhuokoskompleksin toimintahäiriöihin, mukaan lukien tietyt syövä ja neurodegeneratiiviset häiriöt. HK-CRISPR-mEGFP-Seh1-solulinjassa yhdistyvät geneettinen muokkaus ja kehittynyt kuvantaminen kattavaa biolääketieteellistä tutkimusta varten.

## Organism

Ihminen

## Tissue

Endocervix

## Disease

Adenokarsinooma

## Ominaisuudet

## Age

30 vuotta

## Gender

Nainen

## Ethnicity

Afroamerikkalainen

## Morphology

Epiteelin kaltaiset solut, joilla on mosaiikkimaisen kiven muotoinen rakenne

## Growth properties

Tarttuva

## Säätelytiedot

## Citation

HK-CRISPR-mEGFP-Seh1 (Cytionin luettelonumero 300669)

## Biosafety level

1

## NCBI\_TaxID

9606

## HK-CRISPR-mEGFP-Seh1-solut | 300669

**Depositor** Ellenbergin laboratorio (EMBL)

**GMO Status** GMO-S1: Tämä HeLa Kyoto -linja sisältää CRISPR-kopioinnin mEGFP:stä Seh1-lokuksessa, mikä tukee Y-kompleksin dynamiikan analysointia elävässä solussa. Tämä luokitus koskee vain Saksaa, ja se voi poiketa muualla.

**Biomolekyyli tiedot**

**Protein expression** Seh1, mEGFP-tag

**Käsittely**

**Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukoosia, w: 4 mM L-glutamiinia, w: 3,7 g/l NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM natriumpyruvaattia (Cytionin artikkelinumero 820300a)

**Supplements** Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.

**Freeze medium** Kryosäilytysmediaan käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

## HK-CRISPR-mEGFP-Seh1-solut | 300669

**Thawing and  
Culturing Cells**

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvaa, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

**Incubation  
Atmosphere**37 °C, 5 %  $\text{CO}_2$ , kostutettu ilmakehä.**Flask Coating**

Ei mitään

**Freezing  
Procedure**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

**Shipping  
Conditions**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

## HK-CRISPR-mEGFP-Seh1-solut | 300669

### Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

## Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

### Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.