

HK-CRISPR-mEGFP-RanBP2/Nup358-solut | 301575

Yleisiä tietoja

Description

HK-CRISPR-mEGFP-Nup358-solulinja on geneettisesti muunnettu johdannainen HeLa Kioton soluista, jotka tunnetaan niiden kestävydestä ja laajasta käytöstä tieteellisessä tutkimuksessa. Tämä solulinja on muunnettu CRISPR-Cas9-tekniikan avulla ilmentämään mEGFP:tä (monomeerinen parannettu vihreä fluoresoiva proteiini), joka on merkitty Nup358:lla, joka on ydinhuokoskompleksin (NPC) tärkeä osa. Nup358:lla, joka tunnetaan myös nimellä RanBP2, on merkittävä rooli nukleosyttoplasmassa, mitotoottisen karan kokoamisessa ja muissa soluprosesseissa. MEGFP-tunniste mahdollistaa Nup358:n visualisoinnin, mikä helpottaa sen dynamiikan ja vuorovaikutusten reaaliaikaista havainnointia solun sisällä.

HeLa Kyoto -soluille, jotka ovat alkuperäisten HeLa-solujen alalinja, on ominaista niiden sopeutumiskyky ja vakaa kasvu viljelyssä. Tämän solulinjan CRISPR-Cas9-järjestelmä mahdollistaa tarkan genomieditoinnin, joka varmistaa, että mEGFP-tunniste fuusioidaan tarkasti Nup358-proteiiniin häiritsemättä sen toimintaa. Tämä tekee HK-CRISPR-mEGFP-Nup358-solulinjasta arvokkaan työkalun ydinhuokoskompleksin rakenteellisten ja toiminnallisten näkökohtien tutkimiseen. Tutkijat voivat käyttää tätä solulinjaa saadakseen tietoa nukleosytoplasmasta kuljetusta ohjaavista mekanismeista ja Nup358:n roolista solujen homeostaasissa ja sairaustiloissa, kuten syövässä ja virusinfektioissa.

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-Nup358 (Cytionin luettelonumero 301575)

Biosafety level 1

HK-CRISPR-mEGFP-RanBP2/Nup358-solut | 301575

NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_B7FS
Depositor	Ellenbergin laboratorio (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Tämä HeLa Kyoto -linja sisältää CRISPR-integroidun mEGFP-tunnisteen RanBP2/Nup358-paikannuksen kohdalla, mikä mahdollistaa ydinhuoneen sytoplasmafilamenttien visualisoinnin. Tämä luokitus koskee vain Saksaa, ja se voi poiketa muualla.

Biomolekyyli tiedot

Products	EGFP (tehostettu vihreä fluoresoiva proteiini)
-----------------	--

Käsittely

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukoosia, w: 4 mM L-glutamiinia, w: 3,7 g/l NaHCO ₃ , w: 1,0 mM natriumpyruvaattia (Cytionin artikkelinnumero 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.
Fluid renewal	2-3 kertaa viikossa
Freeze medium	Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonnumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

HK-CRISPR-mEGFP-RanBP2/Nup358-solut | 301575**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 % 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-RanBP2/Nup358-solut | 301575

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.