

HK-CRISPR-Nup62-mEGFP-solut | 300659

Yleisiä tietoja

Description

HK-CRISPR-Nup62-mEGFP-solulinja on ihmisen solumalli, jossa Nup62-geeni on merkitty monomeerisellä tehostetulla vihreällä fluoresoivalla proteiinilla (mEGFP). Tämä modifikaatio mahdollistaa Nup62:n reaaliaikaisen visualisoinnin ydinkuoren sisällä, mikä auttaa tutkimaan ydinkuljetusta, NPC-kokoonpanoa ja dynamiikkaa. Tarkka genomin muokkaus saavutettiin CRISPR-Cas9-tekniikalla, mikä tekee siitä luotettavan mallin Nup62:n roolin tutkimiseen soluprosesseissa.

Tämä solulinja on arvokas nukleosytolasman kuljetuksen, solusyklin säätelyn ja ydinarkkitehtuurin tutkimuksessa. Nup62:n fluoresoiva merkintä mahdollistaa korkean resoluution kuvantamisen ja elävän solun seurannan, mikä helpottaa fluoresenssimikroskopiaa ja muita kuvantamistekniikoita. Tutkijat voivat tutkia ydin-sytolasman vaihdon molekyylimekanismeja ja Nup62:n roolia sairauksissa, kuten syövässä ja neurodegeneratiivisissa häiriöissä.

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-Nup62-mEGFP (Cytionin luettelonumero 300659)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

HK-CRISPR-Nup62-mEGFP-solut | 300659

Depositor Ellenbergin laboratorio (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Tämä HeLa Kyoto -linja sisältää mEGFP-merkityn Nup62:n, joka on tuotettu CRISPR:llä, mikä mahdollistaa keskuskanavan ydinhuokoskomponenttien kuvantamisen. Tämä luokitus koskee vain Saksaa, ja se voi poiketa muualla.

Biomolekyyli tiedot

Protein expression Nup62, mEGFP-tag

Käsittely

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/l glukoosia, w: 4 mM L-glutamiinia, w: 3,7 g/l NaHCO₃, 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 tuoreeseen väliaineeseen 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-Nup62-mEGFP-solut | 300659

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädettynä 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 mikrobilääkettä, 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-prosenttisella 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 tarttuvia, 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-Nup62-mEGFP-solut | 300659

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 ja molekyylianalyysi

Sterility

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

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