

## HK-CRISPR-Tpr-mEGFP-solut | 300662

## Yleisiä tietoja

## Description

HK-CRISPR-Tpr-mEGFP-solulinja on erikoistunut malli, joka on kehitetty kehittyneeseen geneettiseen tutkimukseen, erityisesti genomien muokkaukseen ja geeniekspressiotutkimuksiin. Se on johdettu HeLa Kyoto -soluista, ja siinä on integroitu CRISPR/Cas9-teknologia tarkkaa genomimuutosta varten. MEGFP-reportterigeenin (monomeerinen parannettu vihreä fluoresoiva proteiini) sisällyttäminen helpottaa soluprosessien reaaliaikaista visualisointia ja seurantaa, mikä tekee siitä vankan työkalun geenien toiminnan, proteiinien lokalisoinnin ja dynaamisten solutapahtumien tutkimiseen elävissä soluissa.

Tämä solulinja on erityisen hyödyllinen nefrologian tutkimuksessa, lääkkeiden löytämisessä ja toksikologisissa tutkimuksissa. Tpr-geenin, joka on ydinhuokoskompleksin osa, ilmentyminen auttaa ymmärtämään ydinkuljetusmekanismeja ja solujen lokeroitumista. Tutkijat käyttävät HK-CRISPR-Tpr-mEGFP-soluja tutkiakseen ydinhuokosproteiinien roolia erilaisissa solupoluissa, mikä edistää syöpää, virusinfektioita ja geneettisiä häiriöitä koskevia oivalluksia.

**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-Tpr-mEGFP (Cytionin luettelonumero 300662)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**HK-CRISPR-Tpr-mEGFP-solut | 300662****Depositor** Ellenbergin laboratorio (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Tämä HeLa Kyoto -linja sisältää CRISPR:llä tuotetun mEGFP-merkityn Tpr:n, joka mahdollistaa ydinkorin arkkitehtuurin tutkimisen. Tämä luokitus koskee vain Saksaa, ja se voi poiketa muualla.**Biomolekyyli tiedot****Protein expression** Tpr, 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** Kryosäilytysmediana 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-Tpr-mEGFP-solut | 300662****Thawing and  
Culturing Cells**

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädytettynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, 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 jäästä 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 kuivajäässä 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 kuivajäässä 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-Tpr-mEGFP-solut | 300662

### 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 määrittäyksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

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