

HK-CRISPR-Nup188-mEGFP sejtek | 300657

Általános információk

Description

A HK-CRISPR-Nup188-mEGFP egy genetikailag módosított Hela Kyoto sejt vonal. A CRISPR/Cas9 technológiát alkalmazza a mEGFP (monomimerikus Enhanced Green Fluorescent Protein) integrálására a Nup188 lokuszra. A Nup188 egy kulcsfontosságú nukleoporin fehérje, amely részt vesz a nukleáris pórus komplexben, amely nélkülözhetetlen a molekulák sejtmag és citoplazma közötti szállításához. A mEGFP jelölés lehetővé teszi a Nup188 valós idejű vizualizálását, segítve a nukleáris pórus komplex dinamikájának és működésének vizsgálatát.

Ez a sejt vonal különösen hasznos a nukleáris transzporttal és a nukleáris pórus komplex biológiájával foglalkozó kutatók számára. A fluoreszcens jelölés lehetővé teszi a Nup188 megfigyelését különböző körülmények között, beleértve a gyógyszeres kezeléseket és a genetikai módosításokat. Alkalmazásai közé tartozik a nagy tartalmú szűrés, az élő sejtek képkészítése és más fluoreszcencia-alapú technikák, amelyek értékes betekintést nyújtanak a nukleocitoplazmatikus transzportba és a nukleáris burkolózat integritásába.

Organism

Emberi

Tissue

Endocervix

Disease

Adenokarcinóma

Metastatic site

Nem alkalmazható (HeLa Kyoto-származék; az elsődleges daganat helye a méhnyak belső része)

Applications

A nukleáris póruskomplex (NPC) biológiája; nukleocitoplazmatikus transzport; a Nup188 dinamikája és funkciója; a sejtmembrán élősejtes fluoreszcens képkészítése; nagykapacitású szűrés; CRISPR-knock-in validációs vizsgálatok; a nukleáris transzport gátlóinak értékelése

Jellemzők

Age

30 év

Gender

Női

Ethnicity

Afroamerikai

Morphology

Epithelszerű, mozaikos kő alakú sejtek

Cell type

Epithel sejtek

Growth properties

Adherent

HK-CRISPR-Nup188-mEGFP sejtek | 300657

Szabályozási adatok

Citation	HK-CRISPR-Nup188-mEGFP (Cytion katalógusszám: 300657)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	Nincs hozzárendelve (a HK-CRISPR-Nup188-mEGFP egy CRISPR-rel módosított HeLa Kyoto-származék; szülői törzs: HeLa Kyoto CVCL_1922)
Depositor	Az Ellenberg Labor (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Ez a HeLa Kyoto vonal a mEGFP CRISPR knock-in-t tartalmazza a Nup188 lókuszban, ami lehetővé teszi a nukleáris pórus állványzat dinamikájának vizualizálását. Ez a besorolás csak Németországban érvényes, és máshol eltérhet.

Biomolekuláris adatok

Protein expression	Nup188, mEGFP-tag
--------------------	-------------------

A kezelése

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glükóz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM nátrium-piruvát (Cytion cikkszám 820300a)
Supplements	A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel
Dissociation Reagent	Accutase

Subculturing Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.

HK-CRISPR-Nup188-mEGFP sejtek | 300657**Freeze medium**

Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kioltás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150°C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37°C -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítjük a krioüveget 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtszuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejtpelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejtvonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

Nincs

Freezing Procedure

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78°C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

HK-CRISPR-Nup188-mEGFP sejtek | 300657

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejtvonalatokat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78°C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150°C és -196°C közötti hőmérsékleten. A -80°C -on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés és molekuláris elemzés

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.