

Sel HK-CRISPR-Nup93-mEGFP | 300655**Informasi umum****Description**

Garis sel HK-CRISPR-Nup93-mEGFP berasal dari sel HeLa Kyoto dan direkayasa menggunakan teknologi CRISPR/Cas9 untuk mengekspresikan Nup93 yang digabungkan dengan protein fluoresen hijau yang disempurnakan secara monomer (mEGFP). Hal ini memungkinkan visualisasi Nup93 secara real-time di dalam selubung nuklir, membantu dalam studi transpor nuklir-sitoplasma, perakitan kompleks pori nuklir, dan integritas selubung nuklir.

Nup93 sangat penting untuk mempertahankan arsitektur dan fungsi kompleks pori nuklir. Tag mEGFP memungkinkan pelacakan dinamika dan interaksinya, memfasilitasi teknik pencitraan resolusi tinggi seperti mikroskop confocal. Garis sel ini membantu para peneliti memahami regulasi gen, perdagangan nukleositoplasma, dan respons stres seluler.

Garis sel HK-CRISPR-Nup93-mEGFP adalah sumber daya yang berharga untuk mempelajari biologi sel dan penyakit yang terkait dengan kompleks pori nuklir, yang berkontribusi pada strategi terapeutik potensial yang menargetkan jalur transpor nuklir. Ini sangat berguna untuk mengeksplorasi peran selubung nuklir dalam fungsi seluler dan patologi.

Organism

Manusia

Tissue

Endoserviks

Disease

Adenokarsinoma

Karakteristik**Age**

30 tahun

Gender

Perempuan

Ethnicity

Afrika-Amerika

Morphology

Sel mirip epitel dengan bentuk batu mosaik

Growth properties

Patuh

Data Peraturan**Citation**

HK-CRISPR-Nup93-mEGFP (nomor katalog Cytion 300655)

Biosafety level

1

Sel HK-CRISPR-Nup93-mEGFP | 300655

NCBI_TaxID	9606
Depositor	Laboratorium Ellenberg (Ellenberg Lab) (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Garis HeLa Kyoto ini mengandung mEGFP knock-in pada lokus Nup93 endogen untuk studi struktural pori nuklir. Klasifikasi ini hanya berlaku di Jerman dan mungkin berbeda di tempat lain.

Data Biomolekuler

Protein expression	Nup153, mEGFP-tag
---------------------------	-------------------

Penanganan

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L Glukosa, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM Natrium piruvat (Nomor artikel Cytion 820300a)
-----------------------	--

Supplements	Tambahkan media dengan 10% FBS
--------------------	--------------------------------

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

Subculturing	Buang media lama dari sel yang melekat dan cuci dengan PBS yang tidak mengandung kalsium dan magnesium. Untuk labu T25, gunakan 3-5 ml PBS, dan untuk labu T75, gunakan 5-10 ml. Kemudian, tutupi sel sepenuhnya dengan Accutase, menggunakan 1-2 ml untuk labu T25 dan 2,5 ml untuk labu T75. Biarkan sel diinkubasi pada suhu kamar selama 8-10 menit untuk melepaskannya. Setelah inkubasi, campurkan sel secara perlahan dengan 10 ml medium untuk meresuspensi sel, kemudian sentrifugasi pada 300xg selama 3 menit. Buang supernatan, resuspensi sel dalam medium segar, dan pindahkan ke dalam labu baru yang sudah berisi medium segar.
---------------------	---

Freeze medium	Sebagai media kriopreservasi, kami menggunakan media pertumbuhan lengkap (termasuk FBS) + 10% DMSO untuk viabilitas pasca-pencairan yang memadai, atau CM-1 (nomor katalog Cytion 800100), yang mencakup osmoprotektan yang dioptimalkan dan penstabil metabolisme untuk meningkatkan pemulihan dan mengurangi stres yang diinduksi kriopreservasi.
----------------------	---

Sel HK-CRISPR-Nup93-mEGFP | 300655

Thawing and Culturing Cells

1. Pastikan botol tetap dalam keadaan beku pada saat pengiriman, karena sel dikirim dengan es kering untuk mempertahankan suhu optimal selama perjalanan.
2. Setelah diterima, segera simpan cryovial pada suhu di bawah -150°C untuk memastikan pelestarian integritas sel, atau lanjutkan ke langkah 3 jika kultur segera diperlukan.
3. Untuk kultur segera, segera cairkan botol dengan merendamnya dalam penangas air bersuhu 37°C dengan air bersih dan agen antimikroba, aduk perlahan selama 40-60 detik hingga gumpalan es kecil tetap ada.
4. Lakukan semua langkah selanjutnya dalam kondisi steril di dalam tudung alir, desinfektan kriovial dengan etanol 70% sebelum dibuka.
5. Buka botol yang telah didesinfeksi dengan hati-hati dan pindahkan suspensi sel ke dalam tabung sentrifugasi 15 ml yang berisi 8 ml media kultur suhu kamar, aduk perlahan.
6. Sentrifus campuran pada $300 \times g$ selama 3 menit untuk memisahkan sel dan dengan hati-hati membuang supernatan yang mengandung sisa media pembekuan.
7. Resuspensi pelet sel dengan hati-hati dalam 10 ml medium kultur segar. Untuk sel yang melekat, bagi suspensi di antara dua labu kultur T25; untuk kultur suspensi, pindahkan semua media ke dalam satu labu T25 untuk mendorong interaksi dan pertumbuhan sel yang efektif.
8. Patuhi protokol subkultur yang telah ditetapkan untuk pertumbuhan dan pemeliharaan garis sel yang berkelanjutan, memastikan hasil eksperimental yang andal.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfer yang dilembapkan.

Flask Coating

Tidak ada

Freezing Procedure

Lini sel kriopreservasi dikirim di atas es kering dalam kemasan terisolasi yang divalidasi dengan refrigeran yang cukup untuk mempertahankan suhu sekitar -78°C selama perjalanan. Setelah diterima, segera periksa wadah dan pindahkan botol tanpa penundaan ke tempat penyimpanan yang sesuai.

Shipping Conditions

Lini sel kriopreservasi dikirim di atas es kering dalam kemasan terisolasi yang divalidasi dengan refrigeran yang cukup untuk mempertahankan suhu sekitar -78°C selama perjalanan. Setelah diterima, segera periksa wadah dan pindahkan botol tanpa penundaan ke tempat penyimpanan yang sesuai.

Sel HK-CRISPR-Nup93-mEGFP | 300655

Storage Conditions

Untuk pengawetan jangka panjang, tempatkan botol dalam nitrogen cair fase uap pada suhu sekitar -150 hingga -196 °C. Penyimpanan pada suhu -80 °C hanya dapat diterima sebagai langkah sementara sebelum dipindahkan ke nitrogen cair.

Pengendalian Mutu & Analisis Molekuler

Sterility

Kontaminasi mikoplasma disingkirkan dengan menggunakan tes berbasis PCR dan metode deteksi mikoplasma berbasis pendaran.

Untuk memastikan tidak ada kontaminasi bakteri, jamur, atau ragi, kultur sel menjalani inspeksi visual setiap hari.