

Sel HK-CRISPR-Nup188-mEGFP | 300657**Informasi umum****Description**

HK-CRISPR-Nup188-mEGFP adalah garis sel Hela Kyoto yang dimodifikasi secara genetik. Ini menggunakan teknologi CRISPR / Cas9 untuk mengintegrasikan mEGFP (monomer Enhanced Green Fluorescent Protein) di lokus Nup188. Nup188 adalah protein nukleoporin utama yang terlibat dalam kompleks pori nuklir, yang penting untuk transportasi molekul antara nukleus dan sitoplasma. Penandaan mEGFP memungkinkan visualisasi Nup188 secara real-time, membantu dalam mempelajari dinamika dan fungsi kompleks pori nuklir.

Garis sel ini sangat berguna bagi para peneliti yang berfokus pada transportasi nuklir dan biologi kompleks pori nuklir. Penandaan fluoresennya memungkinkan pengamatan Nup188 dalam berbagai kondisi, termasuk perawatan obat dan modifikasi genetik. Aplikasi termasuk penyaringan konten tinggi, pencitraan sel hidup, dan teknik berbasis fluoresensi lainnya, memberikan wawasan berharga tentang transpor nukleositolasma dan integritas selubung nuklir.

Organism

Manusia

Tissue

Endoserviks

Disease

Adenokarsinoma

Metastatic site

Tidak berlaku (turunan HeLa Kyoto; lokasi tumor primer berada di endoserviks)

Applications

Biologi kompleks pori nukleus (NPC); transportasi nukleositolasmik; dinamika dan fungsi Nup188; pencitraan fluoresensi sel hidup pada selubung nukleus; penyaringan berkonten tinggi; studi validasi knock-in CRISPR; evaluasi penghambat transportasi nukleus

Karakteristik**Age**

30 tahun

Gender

Perempuan

Ethnicity

Afrika-Amerika

Morphology

Sel mirip epitel dengan bentuk batu mosaik

Cell type

Sel epitel

Growth properties

Patuh

Data Peraturan

Sel HK-CRISPR-Nup188-mEGFP | 300657

Citation	HK-CRISPR-Nup188-mEGFP (Nomor katalog Cytion 300657)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	Belum ditetapkan (HK-CRISPR-Nup188-mEGFP adalah turunan sel HeLa Kyoto yang dimodifikasi dengan CRISPR; sel induk HeLa Kyoto CVCL_1922)
Depositor	Laboratorium Ellenberg (Ellenberg Lab) (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Jalur HeLa Kyoto ini mengandung CRISPR knock-in mEGFP pada lokus Nup188, yang memungkinkan visualisasi dinamika perancah pori-pori nuklir. Klasifikasi ini hanya berlaku di Jerman dan mungkin berbeda di tempat lain.

Data Biomolekuler

Protein expression	Nup188, 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-Nup188-mEGFP | 300657**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 x 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-Nup188-mEGFP | 300657

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.