

Sel HK-CRISPR-mEGFP-Seh1 | 300669

Informasi umum

Description

Garis sel HK-CRISPR-mEGFP-Seh1 direkayasa untuk pengeditan genom yang tepat menggunakan sistem CRISPR / Cas9, yang menargetkan gen Seh1. Seh1 adalah bagian dari kompleks pori nuklir, yang sangat penting untuk transpor nukleositoplasma. Penyertaan protein fluoresen hijau yang disempurnakan monomer (mEGFP) memungkinkan visualisasi Seh1, membantu studi tentang lokalisasi dan fungsi selulernya.

Garis sel ini sangat berharga untuk penelitian tentang peran Seh1 dalam proses seluler seperti mitosis dan ekspresi gen. Penandaan fluoresen dengan mEGFP memungkinkan pencitraan sel hidup, memfasilitasi penyelidikan penyakit yang terkait dengan disfungsi kompleks pori nuklir, termasuk kanker tertentu dan gangguan neurodegeneratif. Garis sel HK-CRISPR-mEGFP-Seh1 menggabungkan modifikasi genetik dengan pencitraan canggih untuk penelitian biomedis yang komprehensif.

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-mEGFP-Seh1 (nomor katalog Cytion 300669)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

Depositor Laboratorium Ellenberg (Ellenberg Lab) (EMBL)

Sel HK-CRISPR-mEGFP-Seh1 | 300669

GMO Status GMO-S1: Garis HeLa Kyoto ini mengandung CRISPR knock-in mEGFP pada lokus Seh1, yang mendukung analisis sel hidup dari dinamika Y-complex. Klasifikasi ini hanya berlaku di Jerman dan mungkin berbeda di tempat lain.

Data Biomolekuler

Protein expression Seh1, mEGFP-tag

Penanganan

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L Glukosa, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, 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-mEGFP-Seh1 | 300669

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 dilembabkan.

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-mEGFP-Seh1 | 300669

**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.

Kontrol kualitas / Profil genetik / HLA

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.