

Sel HK-CRISPR-Nup62-mEGFP | 300659

Informasi umum

Description

Garis sel HK-CRISPR-Nup62-mEGFP adalah model sel manusia dengan gen Nup62 yang ditandai dengan monomer Enhanced Green Fluorescent Protein (mEGFP). Modifikasi ini memungkinkan visualisasi Nup62 secara real-time di dalam selubung nuklir, membantu penelitian tentang transportasi nuklir, perakitan NPC, dan dinamika. Pengeditan genom yang tepat dicapai dengan menggunakan teknologi CRISPR-Cas9, menjadikannya model yang dapat diandalkan untuk menyelidiki peran Nup62 dalam proses seluler.

Garis sel ini sangat berharga untuk penelitian dalam transpor nukleositoplasma, regulasi siklus sel, dan arsitektur nuklir. Penandaan fluoresen Nup62 memungkinkan pencitraan resolusi tinggi dan pelacakan sel hidup, memfasilitasi mikroskop fluoresensi dan teknik pencitraan lainnya. Para peneliti dapat mengeksplorasi mekanisme molekuler pertukaran nuklir-sitoplasma dan peran Nup62 dalam penyakit seperti kanker dan gangguan neurodegeneratif.

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-Nup62-mEGFP (nomor katalog Cytion 300659)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

Sel HK-CRISPR-Nup62-mEGFP | 300659**Depositor** Laboratorium Ellenberg (Ellenberg Lab) (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Jalur HeLa Kyoto ini mengandung Nup62 bertanda mEGFP yang dihasilkan melalui CRISPR, yang memungkinkan pencitraan komponen pori-pori nuklir saluran pusat. Klasifikasi ini hanya berlaku di Jerman dan mungkin berbeda di tempat lain.**Data Biomolekuler****Protein expression** Nup62, 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-Nup62-mEGFP | 300659

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-Nup62-mEGFP | 300659

**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.