

HK-CRISPR-mEGFP-RanBP2/Nup358 ląstelės | 301575

Bendra informacija

Description

HK-CRISPR-mEGFP-Nup358 ląstelių linija yra genetiškai modifikuota HeLa Kioto ląstelių, kurios yra žinomos dėl savo tvirtumo ir plačiai naudojamos moksliniuose tyrimuose, atmaina. Ši ląstelių linija modifikuota naudojant CRISPR-Cas9 technologiją, kad būtų išreikštas mEGFP (monomerinis sustiprintas žaliasis fluorescencinis baltymas) pažymėtas Nup358 - esminis branduolio porų komplekso (NPC) komponentas. Nup358, dar žinomas kaip RanBP2, atlieka svarbų vaidmenį nukleocitoplazmos pernešimo, mitozės verpstės surinkimo ir kituose ląstelės procesuose. MEGFP žymė leidžia vizualizuoti Nup358, palengvina jo dinamikos ir sąveikos ląstelėje stebėjimą realiuoju laiku.

HeLa Kioto ląstelės, originalių HeLa ląstelių sublinija, pasižymi prisitaikymu ir stabilium augimu kultūroje. Šios ląstelių linijos CRISPR-Cas9 sistema leidžia tiksliai redaguoti genomą, užtikrinant, kad mEGFP žyma būtų tiksliai sujungta su Nup358 baltymu, nesutrikdant jo funkcijos. Todėl HK-CRISPR-mEGFP-Nup358 ląstelių linija yra vertinga priemonė tiriant struktūrinius ir funkcinis branduolio porų komplekso aspektus. Tyrėjai gali naudoti šią ląstelių liniją, norėdami išsiaiškinti mechanizmus, valdančius nukleocitoplazminį pernešimą, ir Nup358 vaidmenį ląstelės homeostazėje ir ligų, tokių kaip vėžys ir virusinės infekcijos, būsenose.

Organism

Žmogus

Tissue

Endocervix

Disease

Adenokarcinoma

Charakteristikos

Age

30 metų

Gender

Moteris

Ethnicity

Afroamerikietis

Morphology

| epitelį panašios ląstelės su mozaikos formos akmenukais

Growth properties

Priglundęs

Reguliavimo duomenys

Citation

HK-CRISPR-mEGFP-Nup358 (Cytion katalogo numeris 301575)

Biosafety level

1

HK-CRISPR-mEGFP-RanBP2/Nup358 ląstelės | 301575

NCBI_TaxID 9606**CellosaurusAccession** CVCL_B7FS**Depositor** Ellenbergo laboratorija (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: šioje HeLa Kyoto linijoje yra CRISPR integruota mEGFP žyma RanBP2/Nup358 lokuse, leidžianti vizualizuoti citoplazmines branduolio poros gijas. Ši klasifikacija taikoma tik Vokietijoje ir gali skirtis kitose šalyse.**Biomolekuliniai duomenys****Products** EGFP (sustiprintas žaliasis fluorescuojantis baltymas)**Tvarkymas****Culture Medium** DMEM, š: 4,5 g/l gliukozės, š: 4 mM L-glutamino, š: 3,7 g/l NaHCO₃, š: 1,0 mM natrio piruvato (Cytion gaminio numeris 820300a)**Supplements** Papildykite terpę 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkeltite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.**Fluid renewal** 2-3 kartus per savaitę**Freeze medium** Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

HK-CRISPR-mEGFP-RanBP2/Nup358 ląstelės | 301575**Thawing and
Culturing Cells**

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Nėra

**Freezing
Procedure**

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

**Shipping
Conditions**

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

HK-CRISPR-mEGFP-RanBP2/Nup358 ląstelės | 301575

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.