

HK-CRISPR-Tpr-mEGFP ląstelės | 300662

Bendra informacija

Description

HK-CRISPR-Tpr-mEGFP ląstelių linija yra specializuotas modelis, sukurtas pažangiems genetiniams tyrimams, ypač genomo redagavimo ir genų raiškos tyrimams. Joje, kilusioje iš HeLa Kyoto ląstelių, integruota CRISPR/Cas9 technologija, leidžianti tiksliai modifikuoti genomą. Įterptas mEGFP (monomeras sustiprintas žaliasis fluorescuojantis baltymas) reporterio genas palengvina ląstelių procesų vizualizavimą ir stebėjimą realiuoju laiku, todėl tai yra patikima priemonė genų funkcijai, baltymų lokalizacijai ir dinamiškiems ląsteliniams įvykiams gyvoje ląstelėje tirti.

Ši ląstelių linija ypač naudinga nefrologiniams tyrimams, vaistų atradimui ir toksikologiniams tyrimams. Tpr geno, branduolinių porų komplekso sudedamosios dalies, raiška padeda suprasti branduolinio pernešimo mechanizmus ir ląstelių kompartmentalizaciją. Mokslininkai naudoja HK-CRISPR-Tpr-mEGFP ląsteles, kad ištirtų branduolio porų baltymų vaidmenį įvairiose ląstelių grandyse, taip prisidėdami prie vėžio, virusinių infekcijų ir genetinių sutrikimų įžvalgų.

Organism

Žmogus

Tissue

Endocervix

Disease

Adenokarcinoma

Charakteristikos

Age

30 metų

Gender

Moteris

Ethnicity

Afroamerikietis

Morphology

Į epitelį panašios ląstelės su mozaikos formos akmenukais

Growth properties

Priglundęs

Reguliavimo duomenys

Citation

HK-CRISPR-Tpr-mEGFP (Cytion katalogo numeris 300662)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

HK-CRISPR-Tpr-mEGFP ląstelės | 300662

Depositor Ellenbergo laboratorija (EMBL)

GMO Status GMO-S1: šioje HeLa Kyoto linijoje yra mEGFP žymėtas Tpr, sukurtas naudojant CRISPR, todėl galima atlikti branduolio krepšelio struktūros tyrimus. Ši klasifikacija taikoma tik Vokietijoje ir gali skirtis kitose šalyse.

Biomolekuliniai duomenys

Protein expression Tpr, mEGFP žymė

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 perkeltkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.

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-Tpr-mEGFP ląstelės | 300662

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-Tpr-mEGFP ląstelės | 300662

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.