

Bunky HK-CRISPR-mEGFP-Seh1 | 300669**Všeobecné informácie****Description**

Bunková línia HK-CRISPR-mEGFP-Seh1 je navrhnutá na presnú úpravu genómu pomocou systému CRISPR/Cas9 zameraného na gén Seh1. Seh1 je súčasťou komplexu jadrových pórov, ktorý je kľúčový pre nukleocytoplazmatický transport. Zahŕnutie monoméneho rozšíreného zeleného fluorescenčného proteínu (mEGFP) umožňuje vizualizáciu Seh1, čo pomáha pri štúdiu jeho bunkovej lokalizácie a funkcie.

Táto bunková línia je cenná pre výskum úloh Seh1 v bunkových procesoch, ako je mitóza a expresia génov. Fluorescenčné značenie pomocou mEGFP umožňuje zobrazovanie živých buniek, čo uľahčuje výskum ochorení spojených s dysfunkciou komplexu jadrových pórov vrátane niektorých druhov rakoviny a neurodegeneratívnych porúch. Bunková línia HK-CRISPR-mEGFP-Seh1 kombinuje genetickú modifikáciu s pokročilým zobrazovaním pre komplexný biomedicínsky výskum.

Organism

Ľudské

Tissue

Endocervix

Disease

Adenokarcinóm

Charakteristika**Age**

30 rokov

Gender

Ženy

Ethnicity

Afroameričan

Morphology

Epitelové bunky s mozaikovým tvarom kameňa

Growth properties

Adherent

Regulačné údaje**Citation**

HK-CRISPR-mEGFP-Seh1 (katalógové číslo Cytion 300669)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

Depositor

Ellenbergova laboratória (EMBL)

Bunky HK-CRISPR-mEGFP-Seh1 | 300669

GMO Status GMO-S1: Táto línia HeLa Kyoto obsahuje CRISPR knock-in mEGFP v lokuse Seh1, čo podporuje analýzu dynamiky Y-komplexu v živých bunkách. Táto klasifikácia platí len v Nemecku a môže sa líšiť v iných krajinách.

Biomolekulárne údaje

Protein expression Seh1, mEGFP-tag

Spracovanie

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutamínu, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)

Supplements Doplníte médium o 10 % FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredujte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.

Freeze medium Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

Bunky HK-CRISPR-mEGFP-Seh1 | 300669

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žiadne

Freezing Procedure

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Bunky HK-CRISPR-mEGFP-Seh1 | 300669

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.