

HK-CRISPR-Nup93-mEGFP celice | 300655

Splošne informacije

Description

Celična linija HK-CRISPR-Nup93-mEGFP izhaja iz celic Hela Kyoto in je s tehnologijo CRISPR/Cas9 spremenjena tako, da izraža Nup93, združen z monomernim okrepljenim zelenim fluorescenčnim proteinom (mEGFP). To omogoča vizualizacijo Nup93 v realnem času znotraj jedrske ovojnice, kar pomaga pri preučevanju jedrsko-citoplazmatskega transporta, sestavljanja kompleksa jedrskih por in celovitosti jedrske ovojnice.

Nup93 je ključnega pomena za ohranjanje zgradbe in delovanja kompleksa jedrskih por. Oznaka mEGFP omogoča sledenje njegovi dinamiki in interakcijam, kar olajša tehnike slikanja visoke ločljivosti, kot je konfokalna mikroskopija. Ta celična linija pomaga raziskovalcem pri razumevanju regulacije genov, nukleocitoplazemskega prometa in odzivov celic na stres.

Celična linija HK-CRISPR-Nup93-mEGFP je dragocen vir za preučevanje celične biologije in bolezni, povezanih s kompleksom jedrnih por, ter prispeva k potencialnim terapevtskim strategijam, usmerjenim na poti jedrnega transporta. Še posebej je uporabna za raziskovanje vloge jedrske ovojnice pri celičnem delovanju in patologiji.

Organism

Človek

Tissue

Endocervix

Disease

Adenokarcinom

Značilnosti

Age

30 let

Gender

Ženske

Ethnicity

Afroameričan

Morphology

Epitelnim celicam podobne celice z obliko mozaičnih kamenčkov

Growth properties

Pripadajoče

Regulativni podatki

Citation

HK-CRISPR-Nup93-mEGFP (kataloška številka Cytion 300655)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

HK-CRISPR-Nup93-mEGFP celice | 300655**Depositor** Laboratorij Ellenberg (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Ta linija HeLa Kyoto vsebuje mEGFP knock-in na endogenem lokusu Nup93 za študije strukture jedrskih por. Ta razvrstitev velja samo v Nemčiji in se lahko druge razlikuje.**Biomolekularni podatki****Protein expression** Nup153, mEGFP-oznaka**Ravnanje s spletno stranjo****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glukoze, w: 4 mM L-glutamina, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM natrijevega piruvata (številka izdelka Cytion 820300a)**Supplements** Gojišče dopolnite z 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavrzite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.**Freeze medium** Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročenega s kriom.

HK-CRISPR-Nup93-mEGFP celice | 300655**Thawing and
Culturing Cells**

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu kriovial takoj shranite pri temperaturi pod -150°C , da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri 37°C ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $300 \times g$ 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Flask Coating

Nič

**Freezing
Procedure**

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78°C . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

**Shipping
Conditions**

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78°C . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

HK-CRISPR-Nup93-mEGFP celice | 300655

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vial postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Kontrola kakovosti in molekularna analiza

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.