

HK-CRISPR-Nup188-mEGFP celice | 300657

Splošne informacije

Description

HK-CRISPR-Nup188-mEGFP je gensko spremenjena celična linija Hela Kyoto. Uporablja tehnologijo CRISPR/Cas9 za integracijo mEGFP (monomernega izboljšanega zelenega fluorescentnega proteina) v lokus Nup188. Nup188 je ključna beljakovina nukleopora, ki je vključena v kompleks jedrskih por in je bistvena za prenos molekul med jedrom in citoplazmo. Oznaka mEGFP omogoča vizualizacijo Nup188 v realnem času, kar pomaga pri preučevanju dinamike in delovanja kompleksa jedrnih por.

Ta celična linija je še posebej uporabna za raziskovalce, ki se osredotočajo na jedrski transport in biologijo kompleksa jedrskih por. Fluorescenčno označevanje omogoča opazovanje Nup188 pod različnimi pogoji, vključno z zdravljenjem z zdravili in genskimi spremembami. Uporaba vključuje presejanje z visoko vsebnostjo, slikanje živih celic in druge tehnike, ki temeljijo na fluorescenci, kar omogoča dragocen vpogled v nukleocitoplazemski transport in celovitost jedrske ovojnice.

Organism

Človek

Tissue

Endocervix

Disease

Adenokarcinom

Metastatic site

Ne velja (derivat HeLa Kyoto; primarno mesto tumorja je endocerviks)

Applications

Biologija jedrskega pornega kompleksa (NPC); jedrsko-citoplazemski transport; dinamika in funkcija proteina Nup188; fluorescenčno slikanje jedrske ovojnice v živih celicah; presejanje z visoko vsebnostjo; validacijske študije knock-in z uporabo CRISPR; ocena zaviralcev jedrskega transporta

Značilnosti

Age

30 let

Gender

Ženske

Ethnicity

Afroameričan

Morphology

Epitelnim celicam podobne celice z obliko mozaičnih kamenčkov

Cell type

Epitelijske celice

Growth properties

Pripadajoče

Regulativni podatki

HK-CRISPR-Nup188-mEGFP celice | 300657

Citation	HK-CRISPR-Nup188-mEGFP (katalogška številka Cytion 300657)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	Ni dodeljeno (HK-CRISPR-Nup188-mEGFP je s CRISPR-om modificirana derivata celice HeLa Kyoto; izvorna celica HeLa Kyoto CVCL_1922)
Depositor	Laboratorij Ellenberg (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Ta linija HeLa Kyoto vsebuje CRISPR vgradnjo mEGFP na lokaciji Nup188, kar omogoča vizualizacijo dinamike ogrodja jedrnih por. Ta razvrstitev velja samo v Nemčiji in se lahko drugje razlikuje.

Biomolekularni podatki

Protein expression	Nup188, 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 NaHCO ₃ , 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 (katalogška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročenega s kriom.

HK-CRISPR-Nup188-mEGFP celice | 300657**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-Nup188-mEGFP celice | 300657

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.