

HK-CRISPR-mEGFP-Seh1 celice | 300669

Splošne informacije

Description

Celična linija HK-CRISPR-mEGFP-Seh1 je zasnovana za natančno urejanje genoma s sistemom CRISPR/Cas9, ki je usmerjen na gen Seh1. Seh1 je del kompleksa jedrnih por, ki je ključnega pomena za nukleocitoplazemski transport. Vključitev monomernega okrepljenega zelenega fluorescenčnega proteina (mEGFP) omogoča vizualizacijo Seh1, kar pomaga pri študijah njegove celične lokalizacije in funkcije.

Ta celična linija je dragocena za raziskave vlog Seh1 v celičnih procesih, kot sta mitoza in izražanje genov. Fluorescenčno označevanje z mEGFP omogoča slikanje celic v živo, kar olajša raziskave bolezni, povezanih z motnjami v delovanju kompleksa jedrnih por, vključno z nekaterimi vrstami raka in nevrodegenerativnimi motnjami. Celična linija HK-CRISPR-mEGFP-Seh1 združuje gensko spreminjanje z naprednim slikanjem za celovite biomedicinske raziskave.

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-mEGFP-Seh1 (kataloška številka Cytion 300669)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

Depositor Laboratorij Ellenberg (EMBL)

HK-CRISPR-mEGFP-Seh1 celice | 300669

GMO Status GMO-S1: Ta linija HeLa Kyoto vsebuje CRISPR vgradnjo mEGFP na lokaciji Seh1, kar omogoča analizo dinamike Y-kompleksa v živih celicah. Ta razvrstitev velja samo v Nemčiji in se lahko drugje razlikuje.

Biomolekularni podatki

Protein expression Seh1, 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. Zavržite 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, povzročene s kriom.

HK-CRISPR-mEGFP-Seh1 celice | 300669

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 $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, 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 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 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 $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. 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 $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

HK-CRISPR-mEGFP-Seh1 celice | 300669

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.

Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

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.