

HK-CRISPR-Nup62-mEGFP celice | 300659

Splošne informacije

Description

Celična linija HK-CRISPR-Nup62-mEGFP je model človeških celic z genom Nup62, označenim z monomernim izboljšanim zeleno fluorescenčnim proteinom (mEGFP). Ta modifikacija omogoča vizualizacijo Nup62 v realnem času znotraj jedrske ovojnice, kar pomaga pri študijah jedrskega transporta, sestavljanja in dinamike NPC. Natančno urejanje genoma je bilo doseženo s tehnologijo CRISPR-Cas9, zato je to zanesljiv model za raziskovanje vloge Nup62 v celičnih procesih.

Ta celična linija je dragocena za raziskave nukleocitoplazemskega transporta, uravnavanja celičnega cikla in jedrske arhitekture. Fluorescenčno označevanje Nup62 omogoča slikanje visoke ločljivosti in sledenje celicam v živo, kar olajša fluorescenčno mikroskopijo in druge tehnike slikanja. Raziskovalci lahko raziskujejo molekularne mehanizme izmenjave med jedrom in citoplazmo ter vlogo Nup62 pri boleznih, kot so rak in nevrodegenerativne motnje.

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-Nup62-mEGFP (kataloška številka Cytion 300659)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

HK-CRISPR-Nup62-mEGFP celice | 300659**Depositor** Laboratorij Ellenberg (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Ta linija HeLa Kyoto vsebuje Nup62 z oznako mEGFP, ustvarjeno s CRISPR, ki omogoča slikanje komponent osrednjega kanala jedrne pore. Ta razvrstitev velja samo v Nemčiji in se lahko drugje razlikuje.**Biomolekularni podatki****Protein expression** Nup62, 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, povzročene s kriom.

HK-CRISPR-Nup62-mEGFP celice | 300659

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 krioviala 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 krioviala 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-Nup62-mEGFP celice | 300659

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.