

HK-CRISPR-Nup188-mEGFP Hücreleri | 300657

Genel bilgi

Description

HK-CRISPR-Nup188-mEGFP genetik olarak modifiye edilmiş bir Hela Kyoto hücre hattıdır. Nup188 lokusuna mEGFP (monomerik Geliştirilmiş Yeşil Floresan Protein) entegre etmek için CRISPR/Cas9 teknolojisini kullanır. Nup188, çekirdek ve sitoplazma arasında molekül taşınması için gerekli olan nükleer gözenek kompleksinde yer alan önemli bir nükleoporin proteinidir. MEGFP etiketlemesi, Nup188'in gerçek zamanlı görselleştirilmesine olanak tanıyarak nükleer gözenek kompleksi dinamikleri ve işlevinin incelenmesine yardımcı olur.

Bu hücre hattı, nükleer taşıma ve nükleer gözenek kompleksi biyolojisine odaklanan araştırmacılar için özellikle yararlıdır. Floresan etiketlemesi, ilaç tedavileri ve genetik modifikasyonlar dahil olmak üzere çeşitli koşullar altında Nup188'in gözlemlenmesini sağlar. Uygulamalar arasında yüksek içerikli tarama, canlı hücre görüntüleme ve diğer floresan bazlı teknikler yer alır ve nükleositoplazmik taşıma ve nükleer zarf bütünlüğü hakkında değerli bilgiler sağlar.

Organism

İnsan

Tissue

Endoserviks

Disease

Adenokarsinom

Metastatic site

Uygulanamaz (HeLa Kyoto türeği; birincil tümör bölgesi endoservikstir)

Applications

Nükleer gözenek kompleksi (NPC) biyolojisi; nükleositoplazmik taşıma; Nup188 dinamiği ve işlevi; nükleer zarın canlı hücre floresan görüntülemesi; yüksek içerikli tarama; CRISPR knock-in doğrulama çalışmaları; nükleer taşıma inhibitörlerinin değerlendirilmesi

Özellikler

Age

30 yıl

Gender

Kadın

Ethnicity

Afro-Amerikan

Morphology

Mozaik taş şekilli epitel benzeri hücreler

Cell type

Epitel hücreleri

Growth properties

Yapışık

Düzenleyici Veriler

HK-CRISPR-Nup188-mEGFP Hücreleri | 300657

Citation	HK-CRISPR-Nup188-mEGFP (Cytion katalog numarası 300657)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	Atanmamış (HK-CRISPR-Nup188-mEGFP, CRISPR ile modifiye edilmiş bir HeLa Kyoto türevidir; ana HeLa Kyoto CVCL_1922)
Depositor	Ellenberg Laboratuvarı (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Bu HeLa Kyoto hattı, nükleer gözenek iskele dinamiklerinin görselleştirilmesini sağlayan Nup188 lokusunda bir CRISPR mEGFP knock-in içerir. Bu sınıflandırma sadece Almanya içinde geçerlidir ve başka yerlerde farklılık gösterebilir.

Biyomoleküler Veriler

Protein expression	Nup188, mEGFP-tag
---------------------------	-------------------

Elleçleme

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L Glukoz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM Sodyum piruvat (Cytion ürün numarası 820300a)
Supplements	Ortamı %10 FBS ile takviye edin
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Yapışık hücrelerden eski ortamı çıkarın ve kalsiyum ve magnezyum içermeyen PBS ile yıkayın. T25 şişeleri için 3-5 ml PBS ve T75 şişeleri için 5-10 ml kullanın. Ardından, T25 flasklar için 1-2 ml ve T75 flasklar için 2,5 ml kullanarak hücreleri Accutase ile tamamen kaplayın. Hücreleri ayırmak için oda sıcaklığında 8-10 dakika inkübasyona bırakın. İnkübasyondan sonra, hücreleri yeniden süspanse etmek için 10 ml besiyeriyle hafifçe karıştırın, ardından 300xg'de 3 dakika santrifüjleyin. Süpernatantı atın, hücreleri taze besiyerinde yeniden süspanse edin ve zaten taze besiyeri içeren yeni şişelere aktarın.
Freeze medium	Kriyoprezervasyon ortamı olarak, yeterli çözülme sonrası canlılık için tam büyüme ortamı (FBS dahil) + %10 DMSO veya iyileşmeyi artırmak ve kriyo-indüklenmiş stresi azaltmak için optimize edilmiş ozmoprotektanlar ve metabolik stabilizatörler içeren CM-1 (Cytion katalog numarası 800100) kullanıyoruz.

HK-CRISPR-Nup188-mEGFP Hücreleri | 300657**Thawing and
Culturing Cells**

1. Hücreler taşıma sırasında optimum sıcaklıkları korumak için kuru buz üzerinde gönderildiğinden, flakonun teslimat sırasında derin dondurulmuş halde kaldığını teyit edin.
2. Teslim aldıktan sonra, hücresel bütünlüğün korunmasını sağlamak için kriyovialı hemen -150°C'nin altındaki sıcaklıklarda saklayın veya hemen kültürleme gerekiyorsa 3. adıma geçin.
3. Derhal kültürleme için flakonun temiz su ve antimikrobiyal bir madde içeren 37°C'lik bir su banyosuna daldırıp küçük bir buz kümesi kalana kadar 40-60 saniye boyunca hafifçe çalkalayarak hızlıca çözün.
4. Sonraki tüm adımları steril koşullar altında bir akış başlığı içinde gerçekleştirin ve açmadan önce kriyoviyalleri %70 etanol ile dezenfekte edin.
5. Dezenfekte edilmiş flakonun dikkatlice açın ve hücre süspansiyonunu 8 ml oda sıcaklığında kültür ortamı içeren 15 ml'lik bir santrifüj tüpüne aktarın ve hafifçe karıştırın.
6. Hücreleri ayırmak için karışımı 300 x g'de 3 dakika santrifüjleyin ve artık dondurma ortamı içeren süpernatantı dikkatlice atın.
7. Hücre peletini 10 ml taze kültür ortamında yavaşça yeniden süspanse edin. Yapışık hücreler için, süspansiyonu iki T25 kültür şişesi arasında bölün; süspansiyon kültürleri için, etkili hücre etkileşimini ve büyümesini teşvik etmek üzere tüm ortamı tek bir T25 şişesine aktarın.
8. Hücre hattının sürekli büyümesi ve bakımı için belirlenmiş alt kültür protokollerine uyun ve güvenilir deneysel sonuçlar elde edin.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, %5_{CO2}, nemlendirilmiş atmosfer.

Flask Coating

Yok

**Freezing
Procedure**

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

**Shipping
Conditions**

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

HK-CRISPR-Nup188-mEGFP Hücreleri | 300657

Storage Conditions

Uzun süreli muhafaza için flakonları yaklaşık -150 ila -196 °C'de buhar fazlı sıvı nitrojen içine yerleştirin. 80 °C'de saklama yalnızca sıvı nitrojene aktarılmadan önce kısa bir ara adım olarak kabul edilebilir.

Kalite Kontrol ve Moleküler Analiz

Sterility

Mikoplazma kontaminasyonu hem PCR tabanlı tahliller hem de lüminesans tabanlı mikoplazma tespit yöntemleri kullanılarak dışlanır.

Bakteriyel, fungal veya maya kontaminasyonu olmadığından emin olmak için hücre kültürleri günlük görsel incelemelere tabi tutulur.