

HK-CRISPR-mEGFP-RanBP2/Nup358 Hücreleri | 301575**Genel bilgi****Description**

HK-CRISPR-mEGFP-Nup358 hücre hattı, sağlamlığı ve bilimsel araştırmalarda yaygın kullanımı ile bilinen HeLa Kyoto hücrelerinin genetik olarak tasarlanmış bir türevidir. Bu hücre hattı, nükleer gözenek kompleksinin (NPC) önemli bir bileşeni olan mEGFP (monomerik Geliştirilmiş Yeşil Floresan Protein) etiketli Nup358'i ifade etmek için CRISPR-Cas9 teknolojisi kullanılarak modifiye edilmiştir. RanBP2 olarak da bilinen Nup358, nükleositol plazmik taşıma, mitotik iğ düzeneği ve diğer hücresel süreçlerde önemli bir rol oynar. MEGFP etiketi, Nup358'in görselleştirilmesine olanak tanıyarak hücre içindeki dinamiklerinin ve etkileşimlerinin gerçek zamanlı olarak gözlemlenmesini kolaylaştırır.

Orijinal HeLa hücrelerinin bir alt hattı olan HeLa Kyoto hücreleri, uyartılabilirlikleri ve kültürde istikrarlı büyümeleri ile karakterize edilir. Bu hücre hattındaki CRISPR-Cas9 sistemi, mEGFP etiketinin işlevini bozmadan Nup358 proteinine doğru bir şekilde kaynaşmasını sağlayarak hassas genomik düzenleme sağlar. Bu da HK-CRISPR-mEGFP-Nup358 hücre hattını nükleer gözenek kompleksinin yapısal ve işlevsel yönlerini incelemek için değerli bir araç haline getiriyor. Araştırmacılar bu hücre hattını, nükleositol plazmik taşınmayı yöneten mekanizmalar ve Nup358'in hücre homeostaz ve kanser ve viral enfeksiyonlar gibi hastalık durumlarındaki rolü hakkında bilgi edinmek için kullanabilirler.

Organism

İnsan

Tissue

Endoserviks

Disease

Adenokarsinom

Özellikler**Age**

30 yıl

Gender

Kadın

Ethnicity

Afro-Amerikan

Morphology

Mozaik taş şekilli epitel benzeri hücreler

Growth properties

Yapışık

Düzenleyici Veriler**Citation**

HK-CRISPR-mEGFP-Nup358 (Cytion katalog numarası 301575)

Biosafety level

1

HK-CRISPR-mEGFP-RanBP2/Nup358 Hücreleri | 301575**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_B7FS**Depositor** Ellenberg Laboratuvarı (EMBL)**GMO Status** GMO-S1: Bu HeLa Kyoto hattı, RanBP2/Nup358 lokusunda CRISPR ile entegre edilmiş bir mEGFP etiketi içerir ve nükleer porun sitoplazmik filamentlerinin görselleştirilmesini sağlar. Bu sınıflandırma sadece Almanya içinde geçerlidir ve başka yerlerde farklılık gösterebilir.**Biyomoleküler Veriler****Products** EGFP (Geliştirilmiş Yeşil Floresan Protein)**Elleçleme****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L Glukoz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, 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.**Fluid renewal** haftada 2 ila 3 kez**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-mEGFP-RanBP2/Nup358 Hücreleri | 301575**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 pelletini 10 ml taze kültür ortamında yavaşça yeniden süspansiyon 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-mEGFP-RanBP2/Nup358 Hücresleri | 301575

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 / Genetik profil / HLA

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.