

HK-CRISPR-Pom121-mCherry Hücreleri | 300658

Genel bilgi

Description

HK-CRISPR-Pom121-mCherry hücre hattı, gelişmiş hücresel araştırmalar için tasarlanmış, HeLa Kyoto hücrelerinin genetik olarak tasarlanmış bir çeşididir. Bu hücreler, nükleer gözenek kompleksinin (NPC) önemli bir bileşeni olan Pom121 genine floresan mCherry etiketi eklemek için CRISPR-Cas9 teknolojisi kullanılarak modifiye edilmiştir. Bu modifikasyon, araştırmacıların Pom121'i gerçek zamanlı olarak görselleştirmesine olanak tanınarak nükleer dinamikler ve NPC işlevleri üzerine çalışmalara yardımcı oluyor.

Kırmızı floresan yayan mCherry etiketi, floresan mikroskopu kullanılarak NPC davranışının ve nükleer-sitoplazmik taşınmanın ayrıntılı incelenmesini kolaylaştırır. Bu hücre hattı nükleer gözenek proteinleri, gen ifadesi düzenlemesi, hücre döngüsü kontrolü ve sinyal iletiminin araştırılması için değerli bir araçtır.

Organism

İnsan

Tissue

Endoserviks

Disease

Adenokarsinom

Özellikler

Age

30 yıl

Gender

Kadın

Ethnicity

Afro-Amerikan

Morphology

Mozaik tař şekilli epitel benzeri hücreler

Growth properties

Yapışık

Düzenleyici Veriler

Citation

HK-CRISPR-Pom121-mCherry (Cytion katalog numarası 300658)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

Depositor

Ellenberg Laboratuvarı (EMBL)

HK-CRISPR-Pom121-mCherry Hücreleri | 300658

GMO Status GMO-S1: Bu HeLa Kyoto hattı, Pom121 üzerinde nükleer gözenek membran bileşenlerinin görselleştirilmesini sağlayan CRISPR aracılı bir mCherry etiketi içerir. Bu sınıflandırma sadece Almanya içinde geçerlidir ve başka yerlerde farklılık gösterebilir.

Biyomoleküler Veriler

Protein expression Pom121, mCherry-tag

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.

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-Pom121-mCherry Hücreleri | 300658**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-Pom121-mCherry Hücreleri | 300658

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.