Product sheet

Клітини HK-CRISPR-Nup188-mEGFP | 300657

Загальна інформація

Description	HK-CRISPR-Nup188-mEGFP - це генетично модифікована клітинна лінія Hela Kyoto. Вона використовує технологію CRISPR/Cas9 для інтеграції mEGFP (мономерного розширеного зеленого флуоресцентного білка) в локус Nup188. Nup188 є ключовим білком нуклеопорину, що входить до складу ядерного порового комплексу, необхідного для транспорту молекул між ядром і цитоплазмою. Мічення mEGFP дозволяє візуалізувати Nup188 в реальному часі, що сприяє вивченню динаміки та функції ядерного порового комплексу. Ця клітинна лінія є особливо корисною для дослідників, які займаються вивченням ядерного транспорту та біології ядерного порового комплексу. Її флуоресцентне мічення дозволяє спостерігати за Nup188 за різних умов, включаючи медикаментозне лікування та генетичні модифікації. Застосування включає скринінг високого вмісту, візуалізацію живих клітин та інші флуоресцентні методи, що дають цінну інформацію про нуклеоцитоплазматичний транспорт і цілісність ядерної оболонки.
Organism	Людина
Tissue	Ендоцервікс
Disease	Аденокарцинома
Metastatic site	Не застосовується (похідна лінії HeLa Kyoto; первинне вогнище пухлини — ендоцервікс)
Applications	Біологія ядерно-порового комплексу (NPC); ядерно-цитоплазматичний транспорт; динаміка та функція Nup188; флуоресцентна візуалізація ядерної оболонки в живих клітинах; скринінг з високою інформаційною насиченістю; дослідження з валідації нокауту за допомогою CRISPR; оцінка інгібіторів ядерного транспорту

Характеристики

Age	30 років
Gender	Жінка
Ethnicity	Афроамериканець
Morphology	Епітеліоподібні клітини з формою мозаїчного каменю
Cell type	Епітеліальні клітини
Growth properties	Адепт

Клітини HK-CRISPR-Nup188-mEGFP | 300657

Нормативні дані

Citation	HK-CRISPR-Nup188-mEGFP (номер за каталогом Cytion 300657)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	Не визначено (HK-CRISPR-Nup188-mEGFP — це модифікована за допомогою CRISPR клітина-похідна HeLa Kyoto; батьківська клітина — HeLa Kyoto CVCL_1922)
Depositor	Лабораторія Елленберга (EMBL)
GMO Status	ГМО-S1: Ця лінія HeLa Kyoto містить CRISPR-нок-in mEGFP в локусі Nup188, що дозволяє візуалізувати динаміку ядерних порових скафолдів. Ця класифікація застосовується лише в Німеччині і може відрізнятися в інших країнах.

Біомолекулярні дані

Protein expression	Nup188, mEGFP-тег

Обробка

Culture Medium	ДМЕМ, w: 4,5 г/л Глюкоза, w: 4 мМ L-глутамін, w: 3,7 г/л NaHCO3, w: 1,0 мМ піруват натрію (цит. номер 820300a)
Supplements	Додайте до середовища 10% FBS
Dissociation Reagent	Аккутаза
Subculturing	Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.

Клітини HK-CRISPR-Nup188-mEGFP | 300657

Freeze medium	Як середовище кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

Thawing and Culturing Cells

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.

2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче -150°C, щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.

3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануривши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C, обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.

4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.

5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.

6. Відцентрифугуйте суміш при 300 x g протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.

7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.

8. Дотримуйтесь встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, волога атмосфера.
Flask Coating	Ні

Клітини HK-CRISPR-Nup188-mEGFP | 300657

Freezing Procedure	Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.
Shipping Conditions	Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.
Storage Conditions	Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості та молекулярний аналіз

Sterility	Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми. Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибкового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.