

HK-CRISPR-mEGFP-RanBP2/Nup358 клітини | 301575

Загальна інформація

Description

Клітинна лінія HK-CRISPR-mEGFP-Nup358 є генно-інженерним похідним клітин HeLa Kyoto, відомих своєю стійкістю та широким використанням у наукових дослідженнях. Цю клітинну лінію було модифіковано за допомогою технології CRISPR-Cas9 для експресії mEGFP (мономерного розширеного зеленого флуоресцентного білка), міченого Nup358, критично важливого компонента ядерного порового комплексу (NPC). Nup358, також відомий як RanBP2, відіграє важливу роль у нуклеоцитоплазматичному транспорті, складанні мітотичного веретена та інших клітинних процесах. Мітка mEGFP дозволяє візуалізувати Nup358, полегшуючи спостереження за його динамікою та взаємодією в клітині в режимі реального часу.

Клітини HeLa Kyoto, сублінія оригінальних клітин HeLa, характеризуються адаптивністю та стабільним ростом у культурі. Система CRISPR-Cas9 в цій клітинній лінії дозволяє проводити точне геномне редагування, забезпечуючи точне злиття мітки mEGFP з білком Nup358, не порушуючи його функції. Це робить клітинну лінію HK-CRISPR-mEGFP-Nup358 цінним інструментом для вивчення структурних і функціональних аспектів ядерного порового комплексу. Дослідники можуть використовувати цю клітинну лінію для вивчення механізмів нуклеоцитоплазматичного транспорту та ролі Nup358 у клітинному гомеостазі та захворюваннях, таких як рак та вірусні інфекції.

Organism	Людина
Tissue	Ендоцервікс
Disease	Аденокарцинома

Характеристики

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

Нормативні дані

Citation	HK-CRISPR-mEGFP-Nup358 (номер за каталогом Cytion 301575)
-----------------	-----------------------------------------------------------

HK-CRISPR-mEGFP-RanBP2/Nup358 клітини | 301575

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_B7FS**Depositor** Лабораторія Елленберга (EMBL)**GMO Status** ГМО-S1: Ця лінія HeLa Kyoto містить інтегровану в CRISPR мітку mEGFP в локусі RanBP2/Nup358, що дозволяє візуалізувати цитоплазматичні нитки ядерної пори. Ця класифікація застосовується лише в Німеччині і може відрізнитися в інших країнах.**Біомолекулярні дані****Products** EGFP (розширений зелений флуоресцентний білок)**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.**Fluid renewal** 2-3 рази на тиждень**Freeze medium** Як середовище криоконсервування 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.

HK-CRISPR-mEGFP-RanBP2/Nup358 клітини | 301575**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 криовіал 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 криовіал 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 $300 \times g$ 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. Дотримуйтеся встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , волога атмосфера.

Flask Coating

Для оптимального прикріплення та життєздатності після розморожування ми рекомендуємо використовувати **колби або пластини з колагеновим покриттям**.

**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.

HK-CRISPR-mEGFP-RanBP2/Nup358 клітини | 301575

Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній 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 / Генетичний профіль / HLA

Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.