

Клітини НК-CRISPR-Trp-mEGFP | 300662

Загальна інформація

Description

Клітинна лінія НК-CRISPR-Trp-mEGFP - це спеціалізована модель, розроблена для передових генетичних досліджень, зокрема для редагування геному та вивчення експресії генів. Отримана з клітин HeLa Kyoto, вона інтегрує технологію CRISPR/Cas9 для точних геномних модифікацій. Включення репортерного гена mEGFP (мономерний посилений зелений флуоресцентний білок) полегшує візуалізацію та відстеження клітинних процесів у реальному часі, що робить його надійним інструментом для вивчення функції генів, локалізації білків та динамічних клітинних подій у живих клітинах.

Ця клітинна лінія особливо корисна для нефрологічних досліджень, розробки ліків та токсикологічних досліджень. Експресія гена Trp, компонента комплексу ядерних пор, допомагає зрозуміти механізми ядерного транспорту та клітинної компартменталізації. Дослідники використовують клітини НК-CRISPR-Trp-mEGFP для вивчення ролі білків ядерної пори в різних клітинних шляхах, що сприяє розумінню раку, вірусних інфекцій та генетичних порушень.

Organism

Людина

Tissue

Ендоцervікс

Disease

Аденокарцинома

Характеристики

Age

30 років

Gender

Жінка

Ethnicity

Афроамериканець

Morphology

Епітеліоподібні клітини з формою мозаїчного каменю

Growth properties

Адепт

Нормативні дані

Citation

НК-CRISPR-Trp-mEGFP (номер за каталогом Cytion 300662)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

Клітини НК-CRISPR-Trp-mEGFP | 300662

Depositor Лабораторія Елленберга (EMBL)

GMO Status ГМО-S1: Ця лінія HeLa Kyoto містить мічений mEGFP Trp, згенерований за допомогою CRISPR, що дозволяє вивчати архітектуру ядерного кошика. Ця класифікація застосовується лише в Німеччині і може відрізнятися в інших країнах.

Біомолекулярні дані

Protein expression Trp, 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.

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.

Клітини НК-CRISPR-Trp-mEGFP | 300662**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, зануливши 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 $300 \times g$ 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

Ні

**Freezing
Procedure**

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.

Клітини НК-CRISPR-Trp-mEGFP | 300662

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.